

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **L. PASTEUR**

PAR

**E. DUCLAUX**

ET CONTINUÉES PAR

**E. ROUX (1904)**

**A. CALMETTE (1922)**

COMITÉ DE DIRECTION

**Gab. BERTRAND, E. LECLAINCHE, L. MARTIN,  
F. MESNIL, G. RAMON,**

assistés des Professeurs et Chefs de service de l'Institut Pasteur.

*Secrétaire de la Rédaction : **A. BOQUET.***

\_\_\_\_\_

TOME CINQUANTE-NEUVIÈME

Juillet-Décembre 1937

\_\_\_\_\_

PARIS

**MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS**  
**LIBRAIRES (DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE**  
120, Boulevard Saint-Germain (6<sup>e</sup>).

QR

1

A475

v.59

July-Dec.

1937

PER

---

PARIS. — A. MARETHEUX ET L. PACTAT, IMP., 1, RUE CASSETTE. — 1937.

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU VIRUS DE LA MALADIE D'AUJESZKY

(TROISIÈME MÉMOIRE)

par P. REMLINGER et J. BAILLY.

Depuis la parution de nos premiers travaux sur la maladie d'Aujeszký (1), la répartition géographique de l'affection s'est beaucoup étendue. Si la République Argentine doit être rayée des pays où elle se rencontre (2), la pseudo-rage a été, dans ces dernières années, étudiée successivement (en dehors de la Hongrie, de l'Autriche, de la Yougoslavie, du Brésil, des Etats-Unis dont les foyers sont bien connus), en Roumanie (Riegler, Jonnesco), au Danemark (Schmidt), en Hollande (Lourens), en France (Rossi et Collin; Cruveilhier, Truche et Viala), en Espagne (Steiner et Lopez), en Russie (Tscherniak et Rastegayewa, dans l'île de Spitzbergen et à Léninegrad, après Isabolinsky et Patzewitsch à Smolensk), tout récemment en Tunisie (M<sup>lle</sup> Cordier et M. Ménager), etc. Cette liste est sans doute incomplète. L'Allemagne, la Suisse, l'Italie ne sont vraisemblablement pas indemnes. On trouve en outre

(1) Ces *Annales*, avril 1934 et février 1935.

(2) REMLINGER et BAILLY. *Académie Vétérinaire de France*, 7 mars 1935, p. 181.



dans la littérature vétérinaire la relation d'assez nombreuses affections du système nerveux central avec ou sans symptômes rabiformes dont la nature est demeurée indéterminée et qui, à la réflexion, paraissent avoir été de la maladie d'Aujeszký. De toute évidence, l'affection est moins rare que méconnue. Son extension et l'existence dans son histoire de lacunes nombreuses nous ont déterminés à poursuivre son étude.

#### 1° Existence de régions avirulentes dans le système nerveux central des animaux morts de la maladie d'Aujeszký.

A tous les expérimentateurs qui ont étudié le virus de la maladie d'Aujeszký, il est arrivé de faire, par le cerveau du lapin, un passage avec la substance nerveuse d'un animal mort d'une affection typique et de n'observer aucun phénomène morbide. Cette particularité est parfois cause de désagréments. M. le professeur Aujeszký a l'amabilité de nous envoyer le cerveau d'un lapin ayant succombé à la maladie qui porte son nom. Il arrive à Tanger dans d'excellentes conditions, mais toutes les inoculations demeurent négatives. Un deuxième envoi donne pleine satisfaction. Nous adressons de même, à Bâle, à M. le professeur Doerr, un cerveau de lapin qui paraissait de tout repos. Son inoculation est négative. L'envoi d'un autre cerveau provoque au contraire une maladie typique. Une mésaventure plus grave est la perte du virus, si une réserve n'a pas été constituée en glycérine. Les auteurs qui ont eu à souffrir de cette carence en ont donné des explications différentes. Les uns ont supposé que la mort pouvait se produire à la phase sanguine de la maladie alors que le virus n'était pas encore parvenu aux centres nerveux. L'existence [D. Jonnesco] (3) d'une dégénérescence graisseuse massive du myocarde mettant en liberté de la graisse dans les cavités cardiaques et amenant la mort subite par embolie, pourrait être présentée à l'appui de cette manière de voir. Pour d'autres, il s'agirait d'un phénomène d'auto-stérilisa-

(3) D. JONNESCO. Ces *Annales*, 1934, II, p. 554.

tion, le virus ayant eu le temps non seulement d'arriver au cerveau, mais encore d'y être détruit après avoir déterminé des lésions assez intenses pour causer la mort. L'évolution extrêmement rapide de la maladie d'Aujesky (après une incubation de moins de deux jours, la période d'état ne dure parfois que quelques heures) est de nature à rendre cette hypothèse fort improbable. Nous nous sommes demandé si, conçue d'une façon différente de celle de C. Levaditi, l'autostérilisation ne pourrait pas être un phénomène *post-mortem*. L'encéphale d'un lapin venant de succomber à la maladie d'Aujesky est donc conservé au frigorifique en vue d'inoculations journalières dans le cerveau d'une série de lapins. Les animaux inoculés après un, deux, trois, cinq, six, sept, huit, neuf, onze, douze, quatorze jours, ont succombé à la maladie, tandis que les lapins inoculés les troisième, dixième et treizième jours sont demeurés indemnes. Une deuxième expérience entreprise avec un cerveau de chat et poursuivie jusqu'au moment où, la putréfaction commençant, les lapins inoculés se sont mis à mourir de méningite, a montré de même que le virus d'Aujesky n'était pas détruit *post-mortem*, mais qu'il y avait des irrégularités, des « trous » dans le résultat des inoculations. Nous avons été ainsi amenés à l'idée que la négativité des passages était une question de lieu et non de temps. Pour vérifier cette hypothèse, à l'autopsie de chiens morts de la pseudo-rage, des prélèvements sont effectués dans des points très différents de l'axe cérébro-spinal et des inoculations pratiquées dans le cerveau d'une série de cobayes.

EXPÉRIENCE I. — Le 23 octobre, un chien kabyle de grande taille reçoit dans la chambre antérieure de l'œil une émulsion de virus d'Aujesky hongrois. Du 26 au 28, on assiste à l'évolution de la maladie. A l'autopsie, on effectue des prélèvements aussi localisés que possible en des points soigneusement repérés du névraxe. Les échantillons sont lavés à l'eau stérilisée de manière à les débarrasser de toute trace de sang. Ils sont émulsionnés dans des quantités d'eau physiologique telles que toutes les émulsions ont la même opacité. De chacune, on inocule 3/10 de centimètre cube sous la dure-mère du lapin. Les animaux inoculés avec le cordon supérieur des moelles lombaire et dorsale, les pyramides du collet du bulbe, le tubercule quadrijumeau postérieur (substance grise), la substance blanche du trigone, la corne d'Ammon (mélange de substance blanche et de substance grise), le lobe médian



du cervelet (vermis-substance grise) ont succombé les 30 et 31 octobre à des maladies typiques. Les lapins inoculés avec le cordon inférieur de la moelle lombaire, le cordon inférieur de la moelle dorsale, l'écorce grise du gyrus sigmoïde n'ont présenté aucun symptôme morbide.

EXPÉRIENCE II. — Le 3 novembre, un chien kabyle reçoit dans la chambre antérieure de l'œil une émulsion de virus d'Aujeszky hongrois. Il meurt subitement le 6 à 15 heures. L'autopsie est faite tout de suite, en sorte qu'aucune diffusion du virus *post-mortem* ne peut avoir eu lieu. Ainsi que dans l'expérience précédente, des prélèvements bien localisés sont effectués en des points différents du névraxe. Les échantillons sont, par lavages, débarrassés de toute trace de sang. Ils sont émulsionnés dans une même quantité d'eau physiologique, et de ces émulsions, on inocule 3/10 de centimètre cube sous la dure-mère d'une série de lapins. Les animaux inoculés avec le cordon inférieur de la moelle dorsale, la pyramide gauche du collet du bulbe, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, le vermis médian du cervelet (substance grise) ont succombé les 8, 10 et 11 novembre à des maladies d'Aujeszky typiques, tandis que les lapins inoculés dans des conditions identiques avec le cordon supérieur de la moelle lombaire, le cordon inférieur de la même moelle, le cordon supérieur de la moelle dorsale, la corne d'Ammon, l'écorce grise du gyrus sigmoïde, et la substance blanche du trigone sont demeurés vivants et bien portants.

EXPÉRIENCE III. — Un chien inoculé le 6 novembre dans la chambre antérieure de l'œil succombe à la maladie d'Aujeszky dans la nuit du 9 au 10. L'autopsie est faite le 10 au matin. Des prélèvements sont effectués, des émulsions faites et des inoculations pratiquées dans des conditions identiques à celles des deux expériences précédentes. Les lapins inoculés avec un cordon inférieur de la moelle dorsale, une pyramide du collet du bulbe, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, la corne d'Ammon, l'écorce grise du gyrus sigmoïde, le vermis médian du cervelet ont succombé à la maladie, tandis que les animaux ayant reçu sous la dure-mère des émulsions des cordons supérieurs et inférieurs de la moelle lombaire, des cordons supérieurs de la moelle dorsale et de la substance blanche du trigone n'ont présenté aucun symptôme morbide.

EXPÉRIENCE IV. — Un chien inoculé dans la chambre antérieure de l'œil avec un virus d'Aujeszky hongrois meurt dans la nuit du 13 au 14 novembre. L'autopsie est faite le 14 au matin, cinq heures environ après la mort. Des prélèvements sont effectués, des émulsions et des inoculations pratiquées dans des conditions identiques à celles des 3 expériences précédentes. Les lapins inoculés avec le cordon supérieur gauche de la moelle dorsale, la pyramide gauche du collet du bulbe, la tubercule quadrijumeau postérieur gauche, la substance blanche du trigone, le vermis médian du cervelet ont succombé à des maladies d'Aujeszky classiques. Les lapins inoculés avec les cordons gauches supérieur et inférieur de la moelle lombaire, le cordon inférieur gauche de la moelle dorsale, la corne d'Ammon, l'écorce grise du gyrus sigmoïde sont demeurés vivants et bien portants.

EXPÉRIENCE V. — Un chien kabyle a reçu le 11 novembre dans la veine saphène externe gauche une émulsion de virus d'Aujeszký hongrois. Il succombe dans la nuit du 15 au 16 à une maladie typique. L'autopsie est faite le 16 au matin et il est procédé aux mêmes prélèvements, émulsions et inoculations que dans les expériences précédentes. Le système nerveux ayant été abordé par voie sanguine, on était en droit d'escompter une égale répartition du virus dans tout l'axe cérébro-spinal. Cependant, ont succombé seulement à la maladie les animaux inoculés avec le cordon supérieur gauche de la moelle lombaire, le cordon inférieur gauche de la même moelle, le cordon supérieur gauche de la moelle dorsale. Sont demeurés indemnes, les lapins inoculés avec le cordon inférieur gauche de la moelle dorsale, la pyramide gauche du collet du bulbe, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, la substance blanche du trigone, la corne d'Ammon, le lobe médian du cervelet et l'écorce grise du gyrus sigmoïde.

EXPÉRIENCE VI. — Le 13 novembre, un chien kabyle a reçu une émulsion de virus hongrois dans la veine saphène externe. Il meurt le 18 après avoir présenté une maladie d'Aujeszký typique. L'autopsie est faite aussitôt après la mort et les prélèvements, émulsions et inoculations, effectués comme dans les expériences précédentes. Ici aussi, on était *a priori* en droit de supposer — le virus inoculé dans la veine ayant abordé le système nerveux central par voie sanguine — que la virulence serait plus régulièrement distribuée que dans les cas d'inoculation dans la chambre antérieure. Seuls, néanmoins, ont succombé à la maladie les animaux inoculés avec le cordon supérieur gauche de la moelle lombaire, le cordon supérieur gauche de la moelle dorsale et le cordon inférieur de la même moelle. Les animaux inoculés avec le cordon inférieur gauche de la moelle lombaire, la pyramide gauche du collet du bulbe, le vermis du cervelet, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, la corne d'Ammon, la substance blanche du trigone, l'écorce grise du gyrus sigmoïde sont demeurés vivants et bien portants.

EXPÉRIENCE VII. — Le 24 octobre, un chien kabyle a reçu après trépanation sous la dure-mère, une émulsion de virus hongrois. Il succombe à une maladie d'Aujeszký typique le 27. L'autopsie est faite aussitôt après la mort et les prélèvements, émulsions et inoculations, effectués comme dans les expériences précédentes. Les lapins qui ont succombé à la maladie avaient été inoculés avec la pyramide gauche du collet du bulbe, le vermis du cervelet, l'écorce grise du gyrus sigmoïde, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, la substance blanche du trigone, le cordon inférieur de la moelle dorsale, la corne d'Ammon. Les animaux inoculés avec les cordons inférieur et supérieur de la moelle lombaire et supérieur de la moelle dorsale sont demeurés vivants et bien portants.

EXPÉRIENCE VIII. — A partir du 26 novembre, un chien est alimenté avec les carcasses et les organes des lapins et des cobayes morts de la maladie d'Aujeszký, système nerveux central excepté. Suspect le



2 décembre, au sixième jour, il présente le 3 tous les symptômes de l'affection à laquelle il succombe à 12 heures. L'autopsie est pratiquée trois heures après la mort. Les lapins inoculés avec les cordons gauches supérieur et inférieur de la moelle dorsale, la pyramide gauche du collet du bulbe, la substance blanche du trigone, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, la corne d'Ammon, le lobe médian du cervelet, ont pris la maladie tandis que sont demeurés indemnes les animaux inoculés avec l'écorce grise du gyrus sigmoïde, les cordons gauches supérieur et inférieur de la moelle lombaire.

EXPÉRIENCE IX. — Le 1<sup>er</sup> décembre, un chien a été inoculé sous la dure-mère avec du virus hongrois. Premiers symptômes de la maladie d'Aujeszký le 3. Il est trouvé mort le 4 au matin. Mêmes prélèvements et mêmes inoculations que dans les expériences précédentes. Ont pris la maladie les lapins inoculés avec la pyramide gauche du collet du bulbe, le tubercule quadrijumeau postérieur gauche, le trigone, la corne d'Ammon, le lobe médian du cervelet, l'écorce grise du gyrus sigmoïde, les cordons gauches supérieur et inférieur de la moelle dorsale. Sont demeurés indemnes les animaux ayant reçu les cordons gauches supérieur et inférieur de la moelle lombaire.

EXPÉRIENCE X. — A partir du 6 décembre, un chien est alimenté avec des cerveaux de lapins morts de la maladie d'Aujeszký. Le 10 au matin, l'animal présente une vive agitation en même temps qu'un prurit violent et continu au niveau du pavillon auriculaire gauche qui est à vif. Le prurit déborde par instant vers la nuque et les commissures labiales. Agitation et prurit deviennent, au cours de la journée, de plus en plus intenses. L'animal est trouvé mort le 11 au matin (cinquième jour). Il a vraisemblablement succombé au début de la nuit. L'autopsie est pratiquée à 10 heures. Le corps est en pleine rigidité cadavérique. Néanmoins, le système nerveux central — particulièrement la moelle — présente déjà ce ramollissement précoce sur lequel nous avons précédemment attiré l'attention. Il nuit quelque peu à la rigueur anatomique des prélèvements. On était en droit de supposer, dans ces conditions, que les résultats négatifs seraient moins nombreux que dans les expériences précédentes. Il n'en a rien été. Les lapins inoculés avec le cordon inférieur gauche de la moelle lombaire, la pyramide gauche du collet du bulbe, le lobe médian du cervelet, ont succombé à la maladie ; les 7 autres sont demeurés indemnes.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant.

Il a été, en résumé, expérimenté sur 10 chiens et la substance nerveuse provenant des prélèvements effectués à différentes hauteurs de l'axe cérébro-spinal a été inoculée à 100 lapins. 53 ont contracté la maladie. 47 sont demeurés vivants et bien portants. Ils avaient été inoculés avec :



Un cordon inférieur de la moelle lombaire . . . . .	9 fois.
Un cordon supérieur de la même moelle. . . . .	7 —
L'écorce grise du gyrus sigmoïde . . . . .	7 —
La corne d'Ammon. . . . .	5 —
La substance blanche du trigone . . . . .	5 —
Un cordon inférieur de la moelle dorsale . . . . .	4 —
Un cordon supérieur de la même moelle . . . . .	3 —
Un tubercule quadrijumeau postérieur . . . . .	3 —
Une pyramide du collet du bulbe . . . . .	2 —
Le lobe médian du cervelet. . . . .	2 —
<hr/>	
47 fois.	

Ce chiffre très élevé (47) diffère de celui, sensiblement inférieur, qui exprime la négativité des passages observés d'habitude. Cette différence est certainement en rapport avec une différence de technique dans nos expériences et dans la pratique courante. Dans nos expériences, il n'était injecté que 3/10 de centimètre cube d'une émulsion d'un prélèvement minime, exactement localisé tandis que lorsqu'on « fait un passage » dans un laboratoire, on effectue d'ordinaire un prélèvement massif, portant sur plusieurs régions et l'émulsion est inoculée dans le cerveau en quantité indéterminée, mais le plus souvent abondante. Est-il besoin d'ajouter que c'est à dessein que nous avons, au cours des recherches, modifié la technique des passages, dans le sens de la précision et de la localisation de la virulence?

J. Koch a montré, le premier, que chez une personne morte de rage vraie, le virus pouvait manquer en certains points du cerveau et de la moelle. Il a insisté sur le fait que, pour établir un diagnostic, il ne suffisait pas d'inoculer au lapin un fragment de corne d'Ammon, mais qu'il convenait de faire porter les prélèvements sur diverses parties du système nerveux central et d'inoculer un grand nombre d'animaux, ces précautions étant particulièrement indispensables dans les formes spinales de la maladie. Nous avons vu, pour notre part (4), que, chez le chien, il était également possible que certains points de l'axe cérébro-spinal ne renfermassent pas de virus, mais que cette éventualité était assez rare puisque sur 63 inoculations, elle ne s'était trouvée réalisée que 6 fois (9,92 p. 100). Les faits sur lesquels nous attirons aujourd'hui

(4) Ces *Annales*, 47, p. 608.

NUMÉRO de l'expérience	MODE D'INOCULATION	ÉPOQUE des prélèvements	CORDON SUPÉRIEUR moelle lombaire	CORDON INFÉRIEUR moelle lombaire	CORDON SUPÉRIEUR moelle dorsale	CORDON INFÉRIEUR moelle dorsale	PYRAMIDE du collet du bulbe	TUBERCULE quadrangulaire postérieur	SUBSTANCE BLANCHE du triangle	CORNE D'AMMON	LOBE MÉDIAL du cervelet	ÉCORCE GRISSE du gyrus sigmoides
1 . . . . .	Chambre antérieure.	Quelques heures après la mort.	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0
2 . . . . .	Chambre antérieure.	Immédiatement après la mort.	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0
3 . . . . .	Chambre antérieure.	Plusieurs heures après la mort.	0	0	0	+	+	+	0	+	+	+
4 . . . . .	Chambre antérieure.	Cinq heures après la mort.	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0
5 . . . . .	Veine saphène.	Plusieurs heures après la mort.	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0
6 . . . . .	Veine saphène.	Aussitôt après la mort.	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+
7 . . . . .	Sous la dure-mère.	Aussitôt après la mort.	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0
8 . . . . .	Ingestion.	Trois heures après la mort.	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0
9 . . . . .	Sous la dure-mère.	Plusieurs heures après la mort.	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
10 . . . . .	Ingestion.	Douze heures après la mort.	0	0	+	0	+	0	0	0	+	0



l'attention, établissent entre la rage et la pseudo-rage une analogie de plus. L'existence de zones avirulentes est toutefois beaucoup plus fréquente dans la maladie d'Aujeszký que dans la rage (47 p. 100 contre 9,92 p. 100). D'où la fréquence plus grande des mésaventures et des déconvenues. Dans la rage vraie, le siège des zones avirulentes échappe à toute règle, à toute précision. Il semble qu'elle soit purement accidentelle. Dans la pseudo-rage également, certaines zones avirulentes sont imprévisibles. Elles sont susceptibles de s'observer dans toutes les parties de l'axe cérébro-spinal. Il n'existe pas de régions qui seraient le siège d'élection du virus alors que d'autres ne seraient jamais envahies par lui. En particulier, ces zones avirulentes ne présentent pas une fréquence différente suivant que les prélèvements ont été effectués dans les substances blanche ou grise. Il semble, en conséquence, qu'un certain hasard préside ici comme dans la rage vraie à la distribution du virus le long de l'axe cérébro-spinal. Cependant, on observe, en rapport avec le mode d'inoculation et la propagation centripète, puis centrifuge du virus pseudo-rabique, une systématisation assez nette, systématisation que nous n'avions pas notée dans la rage vraie. C'est ainsi que, particulièrement chez les chiens inoculés sous la dure-mère ou dans l'œil, la moelle lombaire se montre ordinairement avirulente, tandis que ce sont les pyramides du collet du bulbe, les tubercules quadrijumeaux, le trigone, la corne d'Ammon, le lobe médian du cervelet, l'écorce grise du gyrus sigmoïde qui s'avèrent dépourvus de virulence lorsque l'inoculation a été pratiquée dans la saphène externe. Tout se passe alors comme si le virus n'était pas encore, au moment du décès, arrivé à l'endroit où le prélèvement a été effectué. Il importe de faire remarquer que les résultats qui précèdent ne valent que pour le chien, le seul animal sur lequel nous avons expérimenté, et pour un petit nombre seulement de modes d'inoculation (voies intracérébrale, intraoculaire, intraveineuse, ingestion). Ils pourraient être différents dans d'autres espèces animales, chez le singe où le virus d'Aujeszký se montre exclusivement neurotrope [W. Hurst (5)] chez le lapin chez qui il

(5) W. HURST. Etudes sur la pseudo-rage. *Journ. of Experim. Med.*, mars 1936, p. 449-463.

est pantrope et où il est facile de mettre en évidence une phase sanguine précédant la phase nerveuse (Remlinger et Bailly). Ils pourraient être différents aussi avec des modes d'inoculation autres que ceux que nous avons employés. Quoi qu'il en soit, l'existence de zones avirulentes dans le système nerveux central des animaux qui ont succombé aux maladies d'Aujeszkys les plus typiques, explique pleinement la négativité de certains passages et les mésaventures auxquelles celle-ci peut donner lieu.

Pour éviter le retour de pareils contretemps, il paraît inutile de pratiquer des prélèvements en différents points de l'axe cérébro-spinal et d'inoculer de nombreux animaux. On ne peut pas davantage espérer éviter la négativité des passages en effectuant les prises dans une zone plutôt que dans une autre. Les pyramides du collet du bulbe et le lobe médian du cerveau sont les régions qui ont donné le moins de résultats négatifs, mais elles en ont fourni néanmoins. On effectuera deux ou trois prélèvements à une certaine distance l'un de l'autre; on les émulsionnera ensemble et on inoculera cette émulsion mixte bien triturée et bien homogène sous la dure-mère d'un lapin et dans la chambre antérieure d'un autre. S'il s'agit de pseudo-rage non pas clinique, mais expérimentale, les prélèvements porteront surtout sur l'encéphale si l'inoculation a été faite à l'extrémité céphalique; sur la moelle épinière si cette inoculation a été pratiquée au tronc ou aux membres, mais la moelle lombaire sera évitée dans tous les cas.

## 2° Modes d'infection des animaux.

### LA MALADIE D'AÚJESZKY EST-ELLE TRANSMISSIBLE PAR MORSURE?

Tous les auteurs qui se sont posé cette question l'ont résolue par la négative. Cependant, Gerlach et Schweinbürg ont annoncé récemment (6) qu'ils avaient observé la transmission

(6) GERLACH et SCHWEINBURG. Experimentale Untersuchungen über die Aujeszkysche Krankheit. *Zeits. f. Infektionskrankheiten und Hygiene der Haustiere*, 1935, **37**, p. 270-310.



de la maladie par morsure de petits animaux de laboratoire et qu'ils étaient parvenus à infecter des lapins et des cobayes au moyen de la salive d'un bœuf. Il nous a paru intéressant dans ces conditions de soumettre ces points controversés à de nouvelles recherches.

1° LES GLANDES PAROTIDES ET SOUS-MAXILLAIRES RENFERMENT-ELLES LE VIRUS? — On sait que le virus d'Aujeszký se rencontre à la fois dans le sang et dans le système nerveux central. Il se rencontre dans les nerfs périphériques moins fréquemment que le virus rabique. Toutefois, il s'y rencontre et nous avons en particulier décelé sa présence dans le médian et le sciatique. Analogie très étroite avec la rage vraie, le virus pseudo-rabique après inoculation sous-cutanée ou intramusculaire gagne le système nerveux central par la voie des nerfs périphériques. Après inoculation intracérébrale, il se répand dans les nerfs par voie centrifuge. A ce que, dans ces conditions, le virus d'Aujeszký puisse être rencontré dans les glandes salivaires, même débarrassées avec soin du sang qu'elles contiennent, il ne saurait y avoir matière à surprise. De fait, la présence du virus a été décelée dans la parotide et la sous-maxillaire dans les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE XI. — Inoculation à des cobayes des parotides et des sous-maxillaires d'un cobaye mort de maladie d'Aujeszký. Résultat positif.

Le 4 décembre, un cobaye reçoit dans la chambre antérieure de l'œil gauche 1/10 de centimètre cube d'émulsion d'une souche hongroise de virus d'Aujeszký. Il succombe le surlendemain à une forme prurigineuse caractéristique. On prélève les parotides d'une part, les sous-maxillaires d'autre part, et on les débarrasse de toute trace de sang par lavage dans le sérum physiologique. Les glandes sont ensuite émulsionnées séparément, toujours dans de l'eau physiologique, et des deux émulsions on injecte au cobaye 1/10 de centimètre cube dans la chambre antérieure de l'œil et 5 centimètres cubes dans les muscles de la cuisse. Le surlendemain, le cobaye inoculé avec la sous-maxillaire présente un violent prurit de la région orbitaire du côté inoculé. Bientôt, par suite des manœuvres de grattage, toute la partie gauche de la tête est à vif. On assiste à l'évolution d'une maladie d'Aujeszký classique, qui, après vingt-quatre heures, amène la mort.

EXPÉRIENCE XII. — Inoculation à des lapins des parotides et des sous-maxillaires d'un cobaye mort de maladie d'Aujeszký. Résultat positif avec la sous-maxillaire, négatif avec la parotide.

Le 9 décembre, la parotide et la sous-maxillaire d'un cobaye qui vient de succomber à la maladie d'Aujesky sont prélevées et lavées à l'eau physiologique afin de les débarrasser de toute trace de sang. Des émulsions sont pratiquées et celles-ci sont inoculées dans la chambre antérieure de l'œil gauche du lapin. Le lapin inoculé avec la sous-maxillaire est trouvé le 11 au matin se frictionnant sans arrêt la région orbitaire gauche qui est vivement congestionnée et dont les poils commencent à être arrachés. On assiste à l'évolution d'une maladie d'Aujesky typique qui détermine la mort le lendemain. Le lapin inoculé avec la parotide est demeuré vivant et bien portant.

EXPÉRIENCE XIII. — Inoculation à des cobayes des parotides et des sous-maxillaires d'un cobaye atteint de maladie d'Aujesky. Résultat positif avec la parotide, négatif avec la sous-maxillaire.

Le 21 décembre, un cobaye a été inoculé dans la chambre antérieure de l'œil avec une émulsion de virus d'Aujesky. Il présente le surlendemain matin une forme prurigineuse typique et le soir il est complètement paralysé. Afin d'éviter l'objection de la diffusion du virus *post-mortem*, l'animal est sacrifié. La parotide et la sous-maxillaire sont prélevées, lavées au sérum physiologique pour les débarrasser du sang. Deux émulsions sont pratiquées dont on inocule quelques gouttes dans la chambre antérieure de l'œil de deux cobayes. Le 28 décembre (cinquième jour), le cobaye inoculé avec l'émulsion parotidienne est trouvé mort le matin avec des lésions de grattage intense au niveau de l'orbite gauche et des régions voisines, lésions qui ne laissent aucun doute sur la nature de l'affection qui a déterminé la mort. Le cobaye inoculé avec l'émulsion de la glande sous-maxillaire est demeuré vivant et bien portant.

EXPÉRIENCE XIV. — Inoculation à des cobayes de la parotide et de la sous-maxillaire d'un cobaye mort de maladie d'Aujesky. Résultat positif.

Le 23 décembre, un cobaye a été inoculé avec du virus hongrois. Il succombe le 26 à une forme typique de la maladie d'Aujesky. Les parotides et les sous-maxillaires sont prélevées séparément, lavées, émulsionnées dans de l'eau physiologique et inoculées dans la chambre antérieure gauche de 2 cobayes. L'animal inoculé avec la parotide comme l'animal inoculé avec la sous-maxillaire présentent le 28 décembre tous les signes d'une forme prurigineuse typique à laquelle ils succombent le surlendemain.

La réussite des expériences n'est toutefois pas fatale et des résultats négatifs peuvent être obtenus. Témoin l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE XV. — Inoculation à des cobayes de la parotide et de la sous-maxillaire d'un lapin mort de la maladie d'Aujesky. Résultat négatif.

Le 24 décembre, la parotide et la sous-maxillaire d'un lapin qui vient de succomber au virus hongrois sont prélevées séparément, lavées, émulsionnées dans l'eau physiologique et inoculées dans la chambre anté-



rieure de l'œil gauche de 2 cobayes. Le cobaye inoculé avec la parotide et le cobaye inoculé avec la sous-maxillaire sont demeurés vivants et bien portants.

2° LA SALIVE DES ANIMAUX ATTEINTS DE MALADIE D'AUJESZKY EST-ELLE VIRULENTE? — Les auteurs admettent que la salive pourrait être rendue virulente par les sécrétions nasales ou par les mucosités pulmonaires. Toutefois, les expériences destinées à prouver cette virulence sont toujours demeurées négatives. Nous avons observé nous-mêmes que « recueillie chez les animaux atteints de sialorrhée, phénomène fréquent au cours de la maladie expérimentale, et introduite à la sonde dans l'estomac du lapin, la salive se montre inactive, ce que permettait de prévoir le résultat toujours négatif des tentatives de transmission par morsure ». Cette phrase que nous reproduisons à dessein, donne peut-être l'explication de la négativité des expériences réalisées jusqu'à ce jour.

1° Les expériences sont faites ordinairement sur des animaux atteints de sialorrhée et parce que celle-ci attire fortement l'attention de l'expérimentateur, imposant en quelque sorte l'hypothèse de son pouvoir infectieux et parce que cette salive abondante est très facile à recueillir. Cependant la salive prélevée chez un animal enragé après injection de pilocarpine n'est pas infectieuse, ainsi que l'a démontré l'un de nous. Il pourrait en être de même de la salive très abondante d'un animal pseudo-rabique présentant de la sialorrhée.

2° La voie stomacale usitée a l'avantage de se rapprocher des conditions réalisées dans la nature, mais l'inconvénient de ne pas compter parmi les modes d'inoculation les plus sensibles. Nous avons donc, dans une deuxième série de recherches, adopté une technique différente de celle à laquelle nous avons eu une première fois recours. La salive a été péniblement recueillie à la pipette chez des animaux ne présentant aucune sialorrhée et, après dilution dans un peu d'eau physiologique, l'inoculation en a été pratiquée dans la chambre antérieure de l'œil du lapin ou du cobaye. C'est dans ces conditions qu'a été obtenu le résultat positif relaté dans l'observation suivante :

EXPÉRIENCE XVI. — Inoculation à un lapin de la salive d'un cobaye atteint de maladie d'Aujeszky. Résultat positif.

Le 21 décembre, un cobaye est inoculé dans la chambre antérieure avec une émulsion de virus d'Aujesky. Le lendemain, l'animal présente une forme prurigineuse typique. Le soir, il est entièrement paralysé. Quelques gouttes de salive sont prélevées dans le canal lingual à droite et à gauche de la langue et après dilution dans 0 c. c. 5 d'eau physiologique, inoculées dans la chambre antérieure gauche d'un lapin. Trois jours plus tard, le 26 décembre au matin, l'animal est trouvé mort avec des traces de grattage de la région orbitaire gauche. Un passage est fait par le rat. Résultat positif.

De nombreux résultats négatifs ont par contre été obtenus, soit que les animaux inoculés avec la salive aient succombé prématurément à une septicémie (ce qui évidemment ne prouve pas que la salive ne renfermait pas le virus pseudo-rabique) soit que les lapins et les cobayes ayant reçu cette salive n'aient, bien que tenus en observations un temps très long, présenté aucun symptôme.

EXPÉRIENCE XVII. — Inoculation à un lapin de la salive d'un cobaye atteint de maladie d'Aujesky. Résultat négatif.

Le 26 décembre, un cobaye était atteint de maladie d'Aujesky à la période d'état, on recueille à l'aide d'une pipette mousse promenée dans le canal lingual quelques gouttes de salive qui, diluées dans un peu d'eau physiologique, sont inoculées dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin. Celui-ci est demeuré vivant et bien portant.

EXPÉRIENCE XVIII. — Inoculation à 2 lapins de la salive d'un cobaye et d'un lapin atteints de maladie d'Aujesky. Résultat négatif.

Le 28 décembre, on recueille à l'aide d'une pipette mousse une ou deux gouttes de salive dans le canal lingual d'un lapin et d'un cobaye atteints d'une maladie d'Aujesky typique. Après dilution dans une petite quantité d'eau physiologique, cette salive est inoculée dans la chambre antérieure de l'œil de 2 lapins. Ces animaux sont demeurés vivants et bien portants.

EXPÉRIENCE XIX. — Inoculation à 2 lapins de la salive d'un rat atteint de maladie d'Aujesky. Résultat négatif.

Le 15 février, on recueille dans le canal lingual d'un rat atteint de maladie d'Aujesky une petite quantité de salive. Diluée dans un peu d'eau physiologique, elle est injectée dans la chambre antérieure de l'œil de 2 lapins. L'un des deux a succombé dès le lendemain à une septicémie. L'autre est demeuré vivant et bien portant.

EXPÉRIENCE XX. — Inoculation dans la chambre antérieure de 2 lapins de la salive d'un chat atteint de maladie d'Aujesky. Mort de septicémie.

Le 20 janvier, un chat reçoit dans l'épaisseur des muscles cruraux droits 10 cent. cubes d'émulsion de virus d'Aujesky hongrois. Le 24 (quatrième jour), l'animal est manifestement pris. Il ne mange plus, soustrait le membre postérieur droit de l'appui et fait entendre des cris



douloureux sur un timbre spécial très différent de celui des miaulements ordinaires. Les jours suivants, on assiste à l'évolution d'une maladie d'Aujeszkzy typique qui devait amener la mort le 27. Le 26, veille du décès, le chat se trouvant presque complètement paralysé, on prélève à l'aide d'une pipette mousse promenée dans le canal lingual quelques gouttes de salive. Après dilution dans une petite quantité d'eau physiologique, elles sont injectées dans la chambre antérieure de l'œil de 2 lapins. Ils sont trouvés l'un et l'autre morts le 27 au matin, moins de vingt-quatre heures après l'inoculation. Il n'existe aucune réaction locale, aucune lésion de grattage permettant de soupçonner la maladie d'Aujeszkzy. Les cultures et les passages ont démontré que la mort avait été causée par une septicémie.

EXPÉRIENCE XXI. — Inoculation dans la chambre antérieure d'un lapin et dans les muscles d'un cobaye de la salive d'un chat atteint de maladie d'Aujeszkzy. Mort de septicémie.

Le 21 février, chez un chat atteint de maladie d'Aujeszkzy, parvenu au stade paralytique, on obtient en promenant une pipette dans le canal lingual quelques gouttes de salive qui sont diluées dans de l'eau physiologique et injectées dans la chambre antérieure d'un lapin et sous la peau du flanc d'un cobaye. Le lapin succombe le lendemain à une septicémie à *Pasteurella*, le cobaye le surlendemain.

Gerlach et Schweinbürg recueillent la salive d'un bœuf atteint de maladie d'Aujeszkzy; ils l'inoculent par voie sous-cutanée et intra-musculaire à des lapins qui contractent la maladie. Nous avons eu de même un résultat positif chez un cobaye inoculé dans l'œil avec la salive d'un congénère. Ces faits positifs ont évidemment plus de valeur qu'un nombre plus considérable d'observations négatives. Ils sont de nature à faire admettre que la salive des animaux atteints de maladie d'Aujeszkzy est — contrairement à ce qui était cru jusqu'alors — susceptible de renfermer le virus.

3° QUEL EST LE RÔLE DE LA MORSURE DANS LA TRANSMISSION DE LA MALADIE? — La seule expérience positive de transmission de la maladie par morsure est celle de Gerlach et Schweinbürg. Tous les autres auteurs ont obtenu des résultats négatifs. Nous n'avons pas été plus heureux que ceux-ci. Dans une première série de recherches, les animaux mordeurs avaient été : le chat, huit fois; le rat, deux fois; le hérisson, deux fois; les animaux mordus : le rat, sept fois; le chat, deux fois; le lapin, deux fois; le cobaye, une fois. Quels qu'aient été le nombre, le siège, la gravité des lésions, les résultats avaient été

invariablement négatifs. Un peu plus tard, M. Milan Nikolic a fait mordre 5 lapins par un renard et un chat par un chien. Les animaux sont demeurés vivants et bien portants. Dans une deuxième série d'expériences, nous nous sommes heurtés, comme au cours de la première, à la difficulté de provoquer des morsures de la part d'animaux dépourvus d'agressivité, ne recherchant que la tranquillité et l'isolement. Il nous a fallu tourner la difficulté en exploitant l'antipathie de certaines espèces les unes pour les autres ou encore en exerçant des sévices sur un animal malade et en le trompant sur l'auteur de ces sévices. Le détail des expériences serait sans intérêt. Il nous suffira de dire que 5 chats atteints de maladie d'Aujeszky ayant mordu 7 rats, 6 lapins, 5 cobayes et 2 autres chats, aucun des animaux n'a contracté la maladie. Quelques-uns ont succombé à la violence de la morsure ou à une septicémie causée par elle, ce qui montre bien la sévérité de l'épreuve à laquelle les animaux avaient été soumis.

La transmission de la maladie d'Aujeszky par morsure est donc possible, puisque la salive peut être virulente et que Gerlach et Schweinbürg ont vu que des petits animaux de laboratoire mordus par des congénères malades ont contracté l'affection. Nous pensons toutefois qu'il s'agit d'un mode de contamination exceptionnel, très intéressant du point de vue purement scientifique, mais sans importance pratique. Il existe dans la littérature médicale plusieurs observations de syphilis transmise par morsure. Ce sont cependant les rapports sexuels qui occupent le premier plan dans l'étiologie de l'affection. Il existe aussi des observations de transmission du tétanos par morsure de chien, de cheval... voire de tigre. La morsure ne figure cependant qu'à l'arrière-plan dans la pathogénie de la maladie. Il en va certainement de même pour la pseudo-rage. Un grand nombre de considérations épidémiologiques plaident en effet contre l'hypothèse d'un rôle important joué par les morsures. Si la maladie se transmettait ainsi, elle s'étendrait de proche en proche en tache d'huile. En Amérique comme en Europe, au contraire, elle procède par bonds. Nous la voyons sauter du Brésil dans l'Etat d'Iowa (Iac Michigan) par-dessus l'Amérique centrale indemne, comme aussi de Hongrie en Hollande par-dessus l'Allemagne où jamais

l'affection n'a été signalée. De même, les foyers français de Saône-et-Loire, d'Ille-et-Vilaine, de la Haute-Vienne constituent des îlots isolés que de vastes territoires où la maladie est inconnue séparent des foyers contaminés. Le grand nombre, la soudaineté, la simultanéité des atteintes observées dans certains troupeaux sont également en faveur d'un facteur étiologique autre que la morsure. Chez le porc, la maladie ne peut-elle pas frapper en quelques jours jusqu'à 39 p. 100 de l'effectif? Or, jamais, dans les fermes affectées par l'enzootie, il n'a été observé de porc malade s'attaquant à des congénères.

#### TRANSMISSION DE LA MALADIE PAR VOIE AURICULAIRE.

Levaditi et Vieuxchange sont arrivés récemment à transmettre au lapin par voie auriculaire l'encéphalite herpétique et la poliomyélite. Il nous a paru intéressant de rechercher si le virus de la maladie d'Autesky était également inoculable dans ces conditions.

EXPÉRIENCE XXII. — Le 6 juin, après s'être assuré de ce que le conduit auditif externe de 2 lapins et de 2 cobayes adultes, complètement immobilisés sur un plateau, est parfaitement sain, on laisse tomber goutte à goutte dans la cavité une émulsion à 1 p. 50 de cerveau frais de lapin mort à la suite de l'inoculation d'un virus d'Autesky hongrois. 2 cent. cubes d'émulsion suffisent à remplir le conduit des lapins et 0 c. c. 3 celui des cobayes. De façon à exclure toute possibilité de contamination par une autre voie que par la voie auriculaire, on obture avec un tampon de coton ordinaire, puis avec une pince à pression douce. Après une demi-heure, chaque animal est isolé. Un lapin (gris) et les 2 cobayes n'ont présenté aucune manifestation morbide. Le deuxième lapin (blanc) accuse brusquement le 11 juin au matin troisième jour) un prurit incessant au niveau de l'oreille inoculée. Le grattage ne tarde pas à déterminer l'inflammation et la dépilation du pavillon et des régions avoisinantes. Une vive agitation s'empare de l'animal qui ne peut demeurer en place et ne prend de repos que pour porter ses pattes au niveau de l'oreille. Bientôt, la parésie des membres postérieurs se greffe sur l'agitation. A 14 heures, l'animal est trouvé dans sa cage mort « empaillé ». La maladie a évolué en six heures seulement.

EXPÉRIENCE XXIII. — Le 11 juin, on s'assure de ce que le conduit auditif de 2 lapins adultes est sain. On immobilise ceux-ci sur des plateaux et sans pratiquer de friction ni de traumatisme d'aucune sorte, on laisse tomber goutte à goutte dans la cavité auriculaire 2 cent. cubes d'une émulsion épaisse de cerveau de lapin ayant succombé à un virus d'Autesky hongrois. Le conduit est obturé avec un tampon de coton



ordinaire. On fixe à l'aide d'une pince à pression douce et on maintient en place une demi-heure.

Le 14 juin (troisième jour), l'un des 2 lapins (gris) attire l'attention par une inclinaison de la tête du côté inoculé. Aucun autre symptôme, sinon une attitude un peu maussade et de l'inappétence. A 11 heures, on constate l'existence d'un prurit très violent localisé à l'oreille droite. L'animal y porte ses pattes de façon incessante. Il est en proie à des crises d'excitation au cours desquelles il parcourt sa cage en tous sens, éparpillant ses aliments en désordre et n'interrompant sa course que pour se gratter furieusement.

A 14 heures, le prurit est toujours aussi intense, mais l'animal commence à présenter de l'incertitude de la démarche. Il trébuche au cours de manœuvres de grattage. Mort subite à 16 heures.

A l'autopsie, on constate l'existence d'un œdème très marqué au niveau de la commissure inférieure de l'ouverture du pavillon auriculaire. Cet œdème s'étend à la région parotidienne. Il coïncide avec des érosions épidermiques et est manifestement déterminé par le grattage. Le tégument du conduit auditif est intact dans toute son étendue. Comparé à celui du conduit auditif de l'oreille non inoculée, il ne montre aucune congestion, aucune injection vasculaire, aucune infiltration. Le virus a traversé les téguments sans y déterminer la moindre lésion macroscopique. L'urine renferme 16 gr. 60 de glucose par litre.

Le 17 juin au matin (sixième jour), le deuxième lapin (blanc) est trouvé mort dans une attitude empaillée. Le pavillon de l'oreille inoculée montre des lésions de grattage. Une sérosité abondante souille tout le côté droit de la face. A l'autopsie, on note l'aspect normal du tégument du conduit auditif externe. Il ne diffère en rien de l'aspect du conduit symétrique. Il n'existe ni congestion, ni œdème. Les oreilles moyenne et interne apparaissent également de tous points normales. Passage par le cobaye : positif.

Le conduit auditif externe ne se prête pas à l'inoculation de tous les virus neurotropes. Nous avons réussi avec le virus de l'encéphalomyélite des équidés américaine, mais échoué avec le virus rabique, bien que nous nous soyons placés dans les conditions les plus favorables à la réussite de l'expérience : emploi d'animaux jeunes et d'un virus de rue très agressif. Le conduit auditif externe est ainsi à ajouter aux nombreuses voies par lesquelles le virus d'Aujeszky est capable de contaminer les animaux d'expérience : voies nasale, conjonctivale, rectale; inoculations dans les divers organes, dans le testicule, le cerveau, la chambre antérieure, la queue, le coussinet plantaire, la langue; inoculations intra-dermique, sur la peau rasée et surtout inoculation par voie digestive. Nous demandons la permission d'insister à nouveau sur ce dernier mode de contamination.

## TRANSMISSION DE LA MALADIE PAR INGESTION.

Quoi qu'on sache qu'elle ne s'y transmette pas par morsure, le mécanisme de la contamination de la maladie d'Aujeszký dans la nature est loin d'être élucidé. La transmission par les voies digestive, cutanée, nasale, se dispute la faveur des auteurs. Les expériences de Nikolic sur la transmission par les ectoparasites, les tiques en particulier, ne sont pas en faveur de ce mode de contamination. Par contre, toutes ses tentatives pour infecter le chien et le chat par ingestion ont été suivies de succès. Pour Richard E. Shope, le porc et le rat jouent un grand rôle dans l'infection du bétail : « Chez le porc, le virus entre et sort par le nez. » En mettant au contact des cavités nasales de porcs infectés, la peau scarifiée des lapins, on provoque chez ceux-ci une pseudo-rage mortelle. De même, une vache peut être contaminée si les cavités nasales d'un porc viennent chez elle au contact d'une plaie cutanée ou muqueuse. Les porcs se contamineraient en mangeant des rats infectés et le rat contracterait lui-même la maladie en consommant des aliments souillés. On en arrive ainsi à faire jouer à l'ingestion un rôle capital. Nous avons montré, en 1935, que chez le chien, le chat, le rat, le porc, le hérisson, etc., la voie digestive, principalement l'ingestion volontaire de cadavres ou d'organes infectieux joint à une extrême facilité de réalisation, une grande sensibilité. L'intérêt de la question — puisque l'ingestion volontaire de cadavres réalise les conditions qui probablement président à la contamination dans la nature — nous a engagés à procéder à une nouvelle série d'expériences.

EXPÉRIENCES SUR LE CHIEN. — 1° Une chienne épagneule est, à partir du 9 novembre, alimentée avec des carcasses de lapins, morts de la maladie d'Aujeszký, carcasses dont le système nerveux central a été extrait. Le 14 novembre (cinquième jour) au matin, l'animal est trouvé mort dans son box. Il n'avait la veille attiré l'attention par aucune particularité. Le pourtour des naseaux et les commissures des lèvres montrent des traces de grattage. Il est fait un passage par le cobaye (inoculation de 3 cent. cubes d'une émulsion à 1 p. 50 dans les muscles des lombes). L'animal présente, le 17 novembre (troisième jour), tous les symptômes d'une forme prurigineuse typique. Mort le lendemain.

2° Un pointer foie âgé de deux ans est alimenté à dater du 16 novem-

bre avec des cadavres de lapins morts à la suite de l'inoculation du virus d'Aujeszky hongrois, cadavres dont l'encéphale et la moelle ont été extraits. L'animal, qui était parfaitement portant le 20 novembre, est trouvé mort le 21 au matin. On émulsionne ensemble un tronçon de moelle lombaire et la corne d'Ammon. De cette émulsion mixte, on inocule 0 c. c. 3 sous la dure-mère d'un lapin et 3 cent. cubes dans les muscles lombaires d'un cobaye. Ces deux animaux succombent les 23 et 25 novembre à une maladie d'Aujeszky caractéristique.

3° A partir du 26 novembre, un chien est alimenté avec des carcasses et des organes de lapins et de cobayes morts de la maladie d'Aujeszky, système nerveux central excepté. Le 2 décembre (sixième jour), l'animal est triste, et pour la première fois refuse la nourriture. Le lendemain matin, la maladie est déjà avancée. L'animal est trouvé en décubitus latéral, présentant de la salivation et un prurit intense au niveau des commissures labiales. A tout moment, il porte ses pattes dans cette région qu'il frictionne avec insistance. Mort à 12 heures. Son système nerveux central sert à la recherche des régions avirulentes (expérience VIII). Passage positif.

4° A partir du 19 novembre, un chien est alimenté dans les mêmes conditions que les précédents. Premiers symptômes de la maladie le 25 novembre, au sixième jour. Est trouvé mort « empaillé » le 26 au matin (septième jour). Son système nerveux central sert à faire des passages par la dure-mère d'un lapin et d'un cobaye et par les muscles et la chambre antérieure de 2 cobayes. Résultats positifs dans tous les cas.

EXPÉRIENCES SUR LE CHAT. — 1° A partir du 9 novembre, 2 chats sont alimentés avec des carcasses de lapins morts de la maladie d'Aujeszky, système nerveux central excepté.

Chat n° 1. — Le 23 novembre (quatorzième jour), l'animal jusque-là très gai est triste, abattu ; il ne mange plus et fait entendre des plaintes continuelles. Le lendemain, il est paralysé, salive abondamment. La voix est rauque et voilée et l'animal se frictionne avec les pattes de devant les commissures labiales qui paraissent le siège d'un violent prurit. L'animal ne peut plus se maintenir en station quadrupédale. Il est trouvé mort le lendemain 25 novembre au 16° jour. Il est fait un passage par la dure-mère du lapin. Le 28 (troisième jour), l'animal est trouvé mort le matin, empaillé, la bave à la bouche et il existe des traces de grattage autour de celle-ci.

Chat n° 2. — Le 20 novembre (onzième jour), l'animal présente les symptômes de la forme prurigineuse la mieux caractérisée. Il se tient la tête basse faisant entendre, sur un timbre grave, des plaintes incessantes et se grattant sans arrêt le pourtour de la bouche. A la suite de ces manœuvres de grattage, les lèvres sont à vif, dépilées, hémorragiques. L'animal est trouvé mort le 21 au matin. La maladie a été si caractéristique qu'un passage est jugé inutile.

2° A partir du 13 novembre, 2 jeunes chats sont alimentés dans des conditions identiques à celles des 2 précédents. Le 22 novembre (neuvième jour), ils présentent l'un et l'autre un état parétique généralisé, des plaintes incessantes, de la raucité de la voix, une salivation abondante. Une bave spumeuse s'écoule des commissures labiales et souille le pelage du poitrail. Le pourtour de la bouche est le siège d'un violent



prurit. Ils sont l'un et l'autre trouvés morts « empaillés » le 23 novembre (deuxième jour). Le tableau symptomatique est si caractéristique qu'un passage est jugé inutile.

3° A partir du 19 novembre, un chat adulte est alimenté dans des conditions identiques à celles des animaux précédents. Le 26 novembre (septième jour), on constate une salivation abondante, de la tristesse, de la raucité de la voix. Le lendemain, il est paralysé et accuse un prurit violent du pourtour des lèvres. L'animal est trouvé mort « empaillé » le 28 novembre, neuvième jour). Pas de passage.

EXPÉRIENCE SUR LE HÉRISSEAU. — A partir du 9 novembre, un hérisson (*Achthechinus algeris*, Duv. et Lereboullet) est alimenté avec de la chair musculaire et des abats de lapins morts de la maladie d'Aujeszký. Le 14 novembre (cinquième jour), l'animal est trouvé le matin entièrement déroulé et agité de secousses cloniques. Il est triste et ne mange plus. Le lendemain, on constate un état parétique généralisé, de la salivation. L'animal est trouvé mort le 16 au matin (septième jour). Une émulsion du cerveau est inoculée sous la dure-mère d'un lapin qui succombe le surlendemain à une maladie d'Aujeszký caractéristique.

Toutes nos expériences sur la transmission de la maladie par voie digestive ont ainsi été suivies de succès. Nous n'avons pas cherché à déterminer dans quelle partie du tube digestif s'effectuait la contamination. La fréquence du prurit des commissures labiales est de nature à faire supposer que, dans un grand nombre de cas tout au moins, elle a lieu au niveau des toutes premières portions. Cette question est du reste secondaire au point de vue pratique. L'extrême facilité de la contamination par ingestion est par contre un fait d'importance capitale.

#### INOCULATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE.

Nous avons lu avec surprise dans un travail de Weston Hurst (7) que cet auteur n'avait réussi à communiquer la maladie d'Aujeszký aux animaux par voie ni intradermique, ni intraveineuse, ni intramusculaire. Nous avons noté dans notre premier mémoire que le derme constituait une bonne voie d'introduction du virus et que sa sensibilité contrastait même avec la résistance de l'épiderme. Nous avons étayé cette affirmation sur des observations caractéristiques publiées *in extenso*. Nous jugeons donc superflu de revenir sur le sujet.

(7) WESTON HURST. Studies on Pseudo-Rabies. *Journ. of experim. Médéc.*, 63, n° 3, 1<sup>er</sup> mars 1936, p. 449-463.

Nous n'avions pas jugé utile dans ce même mémoire de relater les résultats positifs obtenus avec les inoculations intraveineuses et intramusculaires, la chose nous paraissant connue. La possibilité de la contamination par ces voies ayant été mentionnée sous une forme dubitative, nous avons procédé à de nouvelles expériences qui ont donné les résultats suivants :

EXPÉRIENCE XXIV. — Le 11 novembre, une émulsion à 1 p. 50 de cerveau de lapin mort de virus hongrois est filtrée sur papier et injectée à la dose de 5 cent. cubes dans la saphène externe gauche d'un chien kabylo. Le 15 novembre au matin (quatrième jour), l'animal est manifestement pris. Il est triste, abattu et présente sur toute la région dorso-lombaire une dépilation qui par places est totale. Cette zone est le siège d'un vif prurit et le chien ne pouvant l'atteindre avec les pattes y porte sans cesse les dents. Au niveau du thorax, du côté droit, il existe une autre zone prurigineuse. Elle a la largeur de la main ; le derme y est à nu, l'épiderme ayant été complètement enlevé par le grattage. Le soir, la démarche du chien est vacillante. Il est trouvé mort le lendemain au matin.

EXPÉRIENCE XXV. — Le 13 novembre, une émulsion à 1 p. 50 de cerveau de lapin mort du virus hongrois est filtrée sur papier et inoculée à la dose de 10 cent. cubes dans la veine saphène externe gauche d'un chien kadylo. Le 17 novembre, l'animal est suspect. Alors qu'il se tenait toujours tranquille et silencieux, il a aboyé pendant la nuit ; il est trouvé le matin inquiet et abattu, refusant toute nourriture. Le lendemain, on constate que la région lombaire est le siège d'un violent prurit. Le derme y est à nu et il existe une plaie suintante au niveau de laquelle l'animal porte sans arrêt la langue et même les dents. Une parésie généralisée se mue rapidement en une paralysie complète. Mort à 16 heures.

EXPÉRIENCE XXVI. — Inoculation dans la veine auriculaire du lapin. Résultat positif.

Le 23 novembre, la corne d'Ammon d'un chat qui vient de succomber à une contamination de virus hongrois par ingestion sert à faire une émulsion à 1 p. 40. Celle-ci est filtrée sur papier et injectée à la dose de 1 cent. cube dans la veine auriculaire d'un lapin. Le 25 au soir, l'animal attire l'attention par un état inquiet, de l'inappétence, de la dyspnée. Le lendemain matin, la maladie d'Aujeszky est typique. Mort à 10 heures.

EXPÉRIENCE XXVII. — Le 21 novembre, 3 cent. cubes d'une émulsion à 1 p. 50 de cerveau de lapin mort de la maladie d'Aujeszky (virus hongrois) sont filtrés sur papier et injectés dans la veine saphène externe gauche d'un chien adulte. Le 24, l'animal est triste, abattu, apathique. Sa démarche est vacillante. Aucun prurit. Il ne pense qu'à rester tranquillement couché sur sa litière. Mort le lendemain (quatrième jour). Un lapin inoculé sous la dure-mère avec une émulsion du cerveau succombe le surlendemain à une maladie d'Aujeszky caractéristique.

## INOCULATION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE.

Le 11 novembre, 5 cobayes adultes reçoivent dans l'épaisseur des muscles de la région sacro-lombaire 2 cent. cubes chacun d'une émulsion à 1 p. 40 de cerveau de lapin mort du virus hongrois. Le surlendemain, quarante-six heures après l'inoculation, on constate que tous sont pris. Ils se déplacent avec difficulté, le train postérieur étant parésié. Ils poussent des cris plaintifs. Le point d'inoculation de la région lombaire et même les membres postérieurs tout entiers sont le siège d'un violent prurit. L'état s'aggrave au cours de la journée. On observe des crises de contractures du train postérieur, des chutes au cours des déplacements. Les 5 cobayes meurent dans la nuit et sont trouvés le lendemain « empaillés » sous un aspect rappelant à s'y méprendre une attitude naturelle. La proportion des atteintes ayant été de 5 sur 5, nous avons jugé inutile de procéder à d'autres expériences.

## 4° LONGUE CONSERVATION DU VIRUS D'AUJESZKY EN GLYCÉRINE.

— Nous avons montré précédemment (8) que le virus d'Aujeszky se conservait très longtemps en glycérine. Des cerveaux de lapin dûment enrobés et maintenus au frigorifique à + 6° étaient encore virulents après quatre cent cinquante-quatre jours (virus américain), après cinq cent trente-six jours (virus hongrois). Nous faisons remarquer que ces chiffres étaient, selon toute vraisemblance, loin encore de représenter la limite supérieure de la conservation, limite que nous n'avions pas cherché à déterminer. L'expérience suivante est de nature à montrer que les chiffres précédents étaient en effet très éloignés de la réalité.

EXPÉRIENCE XXVIII. — Inoculation au cobaye d'un cerveau conservé en glycérine depuis mille quatre cent soixante-deux jours. Résultat positif.

Le cerveau d'un chat ayant succombé à la maladie d'Aujeszky (virus hongrois) est enrobé le 25 décembre 1932 dans la glycérine d'un flacon pot-ban et conservé au frigorifique à + 6°. Le 26 décembre 1936, après quatre ans et un jour (mille quatre cent soixante-deux jours), la corne d'Ammon sert à faire dans l'eau physiologique une émulsion à 1 p. 50 dont on injecte 0 c. c. 1 sous la dure-mère d'un premier cobaye et 2 cent. cubes dans les muscles de la masse lombaire d'un second. Le premier animal qui, le 28 décembre au soir, ne présentait encore aucun symptôme morbide, est trouvé mort le lendemain matin au troisième jour. Passages positifs et par la chambre antérieure et par le cerveau.



Le deuxième cobaye présente le 29 décembre (troisième jour), tous les symptômes d'une maladie d'Aujeszký typique à forme prurigineuse. Mort le lendemain.

Il est bien probable que, tout au moins au frigorifique à  $+6^{\circ}$ , quatre ans ne représentent pas encore la limite supérieure de la conservation.

5° CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS ENTRE LES VIRUS DE LA RAGE ET DE LA PSEUDO-RAGE. DIFFICULTÉ DE LA VACCINATION CONTRE LA MALADIE D'AJESZKY. — Le virus de la maladie d'Aujeszký est-il autonome ou n'est-il qu'une variété du virus rabique? Nous sommes pleinement convaincus pour notre part de ce qu'il possède une individualité propre, mais l'opinion opposée a été soutenue. C'est ainsi que pour Milan Nikolic, le virus de la pseudo-rage ne serait qu'une variété éloignée, non transmissible à l'homme par morsure, du virus de la rage vraie. Il n'est donc pas inutile de souligner tous les caractères distinctifs qui peuvent exister entre les deux virus. Aucun des éléments du tableau différentiel que nous avons cru pouvoir dresser à ce sujet (9), n'a trouvé grâce devant Gerlach et Schweinbürg. Il existe, disent-ils, des virus de rue qui déterminent la rage après une incubation très courte. Parfois, l'affection éclate sans prodromes et évolue en quelques heures. Le stade paralytique peut faire défaut dans la rage tandis qu'on peut l'observer, peu marqué il est vrai, dans la maladie d'Aujeszký. Quelques souches d'Aujeszký ne sont nullement prurigineuses. Certains chiens atteints de pseudo-rage sont agressifs comme les chiens atteints de rage vraie et on trouve parfois dans leur estomac des corps inertes. Il n'est pas impossible que la salive des animaux atteints de maladie d'Aujeszký se montre virulente, cette virulence ayant été mise une fois en évidence chez le bœuf. La virulence du sang qui est de règle dans la maladie d'Aujeszký peut, à titre exceptionnel, s'observer dans la rage vraie. Dans la rage, les corps de Negri sont susceptibles de faire défaut, etc., etc. Il est certain, que si on examine isolément les articles d'un tableau différentiel, chacun d'eux peut

(9) Premier Mémoire.

prêter à une facile critique. Au contraire, si on le prend dans son ensemble et si on envisage non pas des cas exceptionnels de rage ou d'Aujeszký, mais les formes courantes qui sont l'immense majorité, il est exact et permet un diagnostic sûr et rapide. Il n'en est pas moins vrai qu'il y a au point de vue doctrinal, un vif intérêt à accumuler entre les deux affections les caractères distinctifs. A ce titre, nous désirons en signaler un sur lequel il ne semble pas que l'attention ait déjà été attirée : la très grande difficulté sinon l'impossibilité éprouvée à vacciner les animaux contre la maladie d'Aujeszký alors que, si facilement, on immunise contre la rage vraie.

Quoique très grave, le pronostic de la maladie d'Aujeszký n'est pas fatal. La guérison s'observe surtout chez le porc (Köves et Hirt) ; mais, tout au moins avec certaines souches, elle se voit aussi chez le lapin, le cobaye, le rat, la souris. Les animaux d'expérience guéris ont l'immunité. Leur sérum est capable de préserver expérimentalement les animaux d'expérience et la mortalité au cours d'une épizootie, peut être diminuée par l'injection de sérum de convalescents. De même encore, il est possible de préparer un antisérum doué de propriétés virulicides et capable de neutraliser le virus. Si de l'immunité passive, on passe à l'immunisation active, on voit les choses sous un aspect différent. Presque tous les auteurs qui ont cherché à vacciner avec des virus soit desséchés, soit traités par le formol ou d'autres antiseptiques : Ortiz Patto, Eory, Braga et Faria, Jonnesco, Patzewitch et Isabolinski, Nikolic, Zwick et Zeller, Lourens, etc., ont échoué. Plus récemment Gerlach et Schweinbürg paraissent s'être heurtés à des difficultés analogues. Au Brésil, Quiroga, Rottgardt et Acosta auraient été plus heureux avec un virus traité par le chloroforme, mais ils se servaient d'un virus « fixé dans sa virulence par passages chez le lapin et capable de tuer régulièrement en treize à quinze jours », ce qui heurte un peu ce que nous savons de la sensibilité du lapin à la maladie d'Aujeszký et des effets des passages du virus de lapin à lapin. Cherchant un vaccin pour notre part, nous avons éprouvé maints déboires, les animaux succombant à l'affection au cours des tentatives d'immunisation, alors même que celle-ci avait été poursuivie avec toute la lenteur et toutes les précautions désirables. Les

expériences suivantes où nous avons essayé sans succès de vacciner les chats en atténuant le virus à l'aide du ricinoléate de sodium — la dernière en date des substances utilisées pour la vaccination contre les virus filtrants — sont caractéristiques à cet égard.

EXPÉRIENCE XXIX. — Le 9 avril, 2 chattes reçoivent sous la peau de l'abdomen 10 cent. cubes d'une émulsion à 1 p. 10 de cerveau de lapin mort de la maladie d'Aujeszky, émulsion demeurée en contact une heure quarante-cinq avec une solution à 1 p. 100 de ricinoléate de sodium. Les injections sont poursuivies du 9 avril au 6 juillet, à raison d'une injection tous les deux jours. 10 cent. cubes sont injectés chaque fois et le contact est abaissé progressivement à une heure, puis à quarante-cinq minutes, puis à trente minutes, une expérience préliminaire ayant démontré que le virus n'était pas tué dans ces dernières conditions. Au total, 400 cent. cubes d'émulsion, c'est-à-dire 40 grammes de substance nerveuse, ont été injectés. Le 8 juillet, les 2 chattes reçoivent sous la peau de la région costale, en même temps qu'un témoin, 10 cent. cubes d'une émulsion à 1 p. 10 de cerveau d'Aujeszky dans de l'eau physiologique. Le témoin présente les premiers symptômes de la maladie le 14 et succombe le 16. Chez l'une des vaccinées, la maladie débute le 19 juillet. Mort le lendemain. La deuxième chatte vaccinée n'ayant présenté aucun symptôme morbide à la date du 24, reçoit dans la chambre antérieure, en même temps qu'un témoin, 3/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1 p. 20 de cerveau de lapin. Chez les 2 animaux, la maladie débute le troisième jour et se termine par la mort le cinquième.

EXPÉRIENCE XXX. — Le 15 avril, 4 chats reçoivent sous la peau de l'abdomen 10 cent. cubes d'une émulsion à 1 p. 10 de cerveau de lapin ayant succombé à la maladie d'Aujeszky, émulsion demeurée en contact une heure quarante-cinq avec une solution à 1 p. 100 de ricinoléate de sodium dans de l'eau stérilisée. Les injections sont répétées tous les deux jours, jusqu'au 6 juillet, à raison chaque fois de 10 cent. cubes d'émulsion, le temps de contact étant progressivement abaissé à soixante, quarante-cinq et trente minutes. Au total, les chats ont reçu 380 cent. cubes de vaccin, soit la dose énorme de 38 grammes de substance cérébrale. Le 8 juillet, ces 4 animaux sont inoculés sous la peau de la région costale avec 10 cent. cubes d'émulsion à 1 p. 10 de cerveau de lapin. Un chat neuf est inoculé semblablement à titre de témoin. Celui-ci, pris le sixième jour, meurt le huitième. Des animaux vaccinés, 3 succombent à une maladie d'Aujeszky typique du huitième au dixième jour. Le chat survivant est inoculé le 24 juillet dans la chambre antérieure avec 3/10 de centimètre cube d'une émulsion à 1 p. 20 de cerveau de lapin, en même temps qu'un témoin. Mort des 2 animaux les cinquième et sixième jours.

Malgré l'injection de doses énormes de substance nerveuse, l'échec chez le chat a, on le voit, été complet. Peut-être les



résultats auraient-ils été moins défavorables s'il avait été procédé plus lentement et avec plus de précautions encore. Peut-être aussi auraient-ils été meilleurs chez le porc chez qui la maladie d'Aujeszký se comporte de façon assez particulière et est fréquemment curable. Toujours est-il que la difficulté d'obtention d'un vaccin contre la pseudo-rage contraste avec la facilité avec laquelle il est vacciné contre la rage vraie. Ici tout réussit : dessiccation, chaleur, dilution, acide phénique, éther, sublimé, glycérine, formol, chloroforme, Yatren, etc. Il y a là, entre les deux virus, un important caractère différentiel de nature à faire écarter l'hypothèse de leur identité et même de leur étroite parenté.

Nous avons vu plus haut avec quelle facilité il était possible de contaminer le chien, le chat, le hérisson, etc., par ingestion de cadavres ou d'organes d'animaux morts de pseudo-rage. Sauf chez la souris, toutes les expériences de contamination par voie digestive entreprises avec le virus rabique sont fatalement vouées à l'échec. Là encore il existe entre les virus de la rage et de la pseudo-rage un caractère différentiel sur lequel il ne semble pas que l'attention ait déjà été attirée et qu'il nous suffira de signaler d'un mot.

#### 6° LA MORT LA NUIT DANS LA MALADIE D'AUJESZKY.

Nous avons relaté, dans notre premier mémoire, que les animaux atteints de maladie d'Aujeszký succombaient fréquemment la nuit et qu'il n'était pas rare de trouver morts le matin, parfois *empaillés*, c'est-à-dire fixés dans une attitude rappelant à s'y méprendre l'attitude qu'ils avaient pendant la vie, des lapins ou des cobayes qui, la veille au soir, ne s'étaient signalés par aucune particularité. Ultérieurement, cette mort nocturne s'est présentée si souvent à notre observation et s'est montrée si caractéristique qu'il ne nous paraît pas inutile d'attirer de façon spéciale l'attention sur elle. Aussi bien est-elle cause de ce que de nombreux cas de maladie d'Aujeszký ont été méconnus. Comment pourrait-il en être autrement? Il est fait par le cerveau d'un lapin un passage avec la substance nerveuse d'un animal mort dans des conditions qui inspirent des doutes. Le lendemain soir, l'ani-

mal ne présente aucun symptôme morbide et il est trouvé mort le surlendemain matin. N'est-il pas naturel dès lors de songer à un accident septique, voire à une faute opératoire et de jeter le cadavre sans procéder à une nouvelle inoculation et à desensemencements qui, s'ils étaient pratiqués, fixeraient le diagnostic? Il était intéressant de rechercher chez les différentes espèces animales inoculées à l'Institut le degré de fréquence de cette mort la nuit. La visite des animaux est passée chaque matin à 8 heures 30 précises; elle est renouvelée plusieurs fois au cours de la journée et une dernière tournée est effectuée le soir vers 6 heures 30. Les constatations sont inscrites aux registres d'expériences. Leur dépouillement a fourni les résultats du tableau suivant. Les morts diurnes sont celles qui se sont produites entre 8 heures 30 du matin et 6 heures 30 du soir; les morts nocturnes, celles qui ont eu lieu entre 6 heures 30 du soir et 8 heures 30 du matin. Une précision plus grande est chez nous impossible.

**Animaux inoculés avec le virus de la Pseudo-Rage.**

	MORT NOCTURNE	MORT DIURNE
Lapins . . . . .	325	142
Cobayes. . . . .	76	24
Chats . . . . .	43	13
Chiens . . . . .	34	9
Rats . . . . .	15	6
Souris . . . . .	4	4
Oiseaux divers . . . . .	16	5
Porcs . . . . .	3	2
Mérions. . . . .	3	2
	519	207

On voit que sur 726 animaux morts de la maladie d'Aujeszky, 519 (71,48 p. 100) ont succombé la nuit et 207 (28,51 p. 100) le jour. Il faut tenir compte cependant de ce que les nécessités du service nous obligent à compter quatorze heures de nuit et dix heures de jour. Les chiffres rectifiés sont ainsi de 482 morts de nuit (66,50 p. 100) et de 244 morts de jour (33,60 p. 100). L'écart demeure considérable, bien supérieur à celui que décèlent les statistiques de la mortalité humaine où la mortalité nocturne n'est que faiblement supérieure à la mortalité diurne. A notre connaissance, cette question de

l'heure de la mort n'a pas encore été l'objet de recherches en médecine vétérinaire ou en médecine expérimentale. Nous n'avons jamais constaté pour notre part que les animaux de laboratoire inoculés soit avec des microbes visibles, soit avec des virus filtrants (rage, herpès, encéphalomyélite, etc.), mourraient davantage la nuit que le jour. Si on considère au contraire les quatre espèces animales sur lesquelles il a été expérimenté le plus souvent avec la maladie d'Aujesky, on voit que la proportion des lapins qui meurent la nuit est, par rapport à ceux qui meurent le jour comme  $2 \frac{1}{4}$  est à 1, celle des cobayes comme 2 est à 1; celle des chats comme 3 est à 1; celle des chiens comme 4 est à 1. A quoi est due cette mortalité nocturne? Il est plus facile de dire à quoi elle n'est pas due que de bien établir ses causes. Elle ne paraît pas attribuable à l'heure à laquelle les inoculations sont pratiquées à l'Institut Pasteur, celles-ci se répartissant pour la maladie d'Aujesky comme pour les autres affections sur toute la longueur de la journée. Elle n'est pas due davantage au refroidissement nocturne peu marqué à Tanger, ni, semble-t-il, à l'obscurité, etc. Nous préférons avouer notre ignorance qu'avancer des hypothèses peu susceptibles de donner satisfaction. Peut-être la remarque suivante permet-elle de serrer le problème d'un peu plus près. Dix lapins étant inoculés semblablement, on constate le surlendemain matin que quelques-uns, trois par exemple, sont morts au cours de la nuit. On s'attend dès lors à voir les survivants présenter durant les heures qui suivent les premiers symptômes de l'affection. Il n'en est rien. Le soir venu, ils sont encore en parfaite santé. Ils n'en mourront pas moins au cours de la nuit suivante. La durée de la maladie déclarée étant très courte, tout se passe donc comme si la mort ne se produisait surtout la nuit que parce que c'est surtout la nuit qu'éclate la maladie. Il est à peine besoin de faire remarquer que cette hypothèse recule le problème plus qu'elle ne le résout.

Les observations suivantes recueillies chez le chien feront bien ressortir l'intérêt que présente à la fois au point de vue purement scientifique et au point de vue pratique cette question de la mort, la nuit, au cours de la maladie d'Aujesky.



EXPÉRIENCE XXXI. — Le 16 novembre, on commence à alimenter avec des cadavres de lapins privés toutefois du système nerveux central un pointer foie âgé de deux ans. Les jours qui suivent, il n'attire l'attention par aucune particularité, et le 20 au soir il est encore en parfait état de santé. Le 21 au matin, il est trouvé mort dans son box. Autopsie négative. Une émulsion mixte de moelle lombaire et de corne d'Ammon est pratiquée et 0 c. c. 3 sont injectés sous la dure-mère d'un lapin. Celui-ci succombe le surlendemain à une infection caractéristique. Un cobaye qui avait reçu dans les muscles lombaires 3 cent. cubes de la même émulsion, présente, le 24 novembre (troisième jour), les premiers symptômes de la forme prurigineuse la plus caractérisée. Mort le 25 ou quatrième jour.

EXPÉRIENCE XXXII. — A partir du 9 novembre, une chienne épagneule est alimentée exclusivement avec des carcasses de lapins morts de la maladie d'Aujesky, carcasses privées du système nerveux central. L'animal, au cours de cette expérience, n'attire l'attention par aucune particularité. Le 13 novembre au soir, il mange une dernière carcasse et est trouvé encore tout à fait bien portant. Aussi, est-on étonné, le 14 au matin (cinquième jour), de le trouver mort dans sa cage. Le pourtour des naseaux et les commissures labiales montrent des traces de grattage, en sorte que la mort par maladie d'Aujesky paraît très probable. Il est néanmoins procédé à un passage. Une émulsion à 1 p. 50 du bulbe est injectée à raison de 3 cent. cubes dans les muscles de la masse lombaire d'un cobaye. Le 17 novembre (troisième jour), l'animal présente, localisé à la région inoculée, un prurit très caractéristique et on assiste au cours de la journée à l'évolution classique de la maladie. L'animal est trouvé mort empaillé le 18 novembre (troisième jour) au matin.

EXPÉRIENCE XXXIII. — A partir du 19 novembre, un chien kabyle est exclusivement alimenté avec des carcasses de lapins morts de la maladie d'Aujesky, carcasses privées toutefois du système nerveux central, lequel sert à d'autres expériences. Aucune particularité à noter jusqu'au 25 novembre. C'est seulement le 25 au soir que l'animal se fait remarquer par une attitude insolite. La tête haute, un membre postérieur soustrait de l'appui par flexion complète, il se tient fortement campé sur les membres antérieurs sans paraître gêné par cette position. En même temps, il refuse la viande fraîche de lapins qu'il mangeait jusqu'ici avec avidité pour ingérer la paille de bois de sa litière. Ces particularités sont insuffisantes pour faire porter le diagnostic de maladie d'Aujesky. Aussi, est-on surpris, le 26 au matin, de trouver l'animal « empaillé ». Des passages sont faits par le cerveau d'un lapin et par la chambre antérieure de l'œil de 2 cobayes. Tous ces animaux succombent le 28 à une maladie d'Aujesky très caractéristique.

7° LE VIRUS DE LA MALADIE D'AUESZKY EST UN « BON VIRUS ».  
— La maladie d'Aujesky a fait, ces dernières années, l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi les données les plus intéressantes, non mentionnées dans les pages qui précèdent, nous signalerons la culture en série du virus sur les testicules

de lapin et l'embryon de poulet, 49 passages n'ayant pas fait perdre aux cultures leurs propriétés pathogènes (Erick Traub): la transmission de la maladie à certains singes : *Saimiris leoninus* (Braga et Faria), *Macaca mulota* (Weston Hurst), alors que *Inuus ecaudatus* se montre réfractaire (Remlinger et Bailly); la différence de symptomatologie entre les maladies transmises par voie entérale et parentérale ainsi que l'analogie symptomatique qui existerait entre l'Aujeszký entéral des animaux et, chez l'homme, certains cas de paralysie bulbaire à étiologie indéterminée (Nikolic); la possibilité chez la vache de la transmission placentaire (Braga et Faria); la fréquence de la maladie chez le mouton (Marcis); la non infectiosité du liquide céphalo-rachidien, etc., etc. Dans tous les pays où la maladie a été observée, qu'elle sévisse sur les bovidés, les équidés, les ovins, les caprins, le porc, le chien, le chat..., les symptômes cliniques présentent la similitude la plus grande. Il en est de même des manifestations expérimentales. C'est tout au plus si le virus des Etats-Unis a paru un peu moins actif pour le cobaye que le virus hongrois et si ce dernier a semblé envahir le sang plus facilement que la souche d'Iowa. A l'aide d'expériences de neutralisation croisée des deux virus par du sérum de porcs guéris de chacune des deux maladies, Shope a, du reste, démontré l'identité du Mad Itch et du virus hongrois. Nous avons établi pour notre part que la souche française d'Aujeszký (Rossi et Colin) se rapportait à un virus typique ne différant en rien des virus hongrois et américain. Il semble ainsi que, tout comme le virus rabique, le virus d'Aujeszký soit ce que Metchnikow appelait une « bonne espèce », un « bon virus » et que doive être épargnée aux biologistes la complication des Aujeszký A, B, C, D, ou celle des virus Para, source de tant de déceptions et de déboires.

### Résumé et Conclusions.

1° A tous les expérimentateurs qui ont étudié la maladie d'Aujeszký, il est arrivé de faire par le cerveau du lapin un passage avec la substance nerveuse d'un animal mort d'une affection typique et de n'observer aucun phénomène morbide.

Le fait est dû à ce que, beaucoup plus fréquemment dans la pseudo-rage que dans la Rage vraie (47 p. 100 contre 9,92 p. 100) il existe dans le système nerveux central des zones avirulentes. Il ne paraît pas exister de régions qui seraient le siège d'élection du virus alors que d'autres ne seraient jamais envahies par lui. Un certain hasard paraît présider comme dans la rage vraie à la distribution du virus dans l'axe cérébro-spinal. Cependant on observe en outre, en rapport avec le mode d'inoculation et la propagation centripète puis centrifuge du virus pseudo-rabique, une certaine systématisation. Le plus pratique pour éviter tout contre-temps est d'effectuer deux ou trois prélèvements à une certaine distance l'un de l'autre et d'inoculer l'émulsion mixte sous la dure-mère de deux lapins. Dans la pseudo-rage expérimentale, les prélèvements porteront de préférence sur l'encéphale si l'inoculation a été faite à l'extrémité céphalique, sur la moelle épinière si cette inoculation a été pratiquée au tronc ou aux membres. La moelle lombaire sera toujours évitée.

2° Le virus d'Aujesky peut être rencontré dans les sous-maxillaires et les parotides même débarrassées avec soin du sang qu'elles contiennent. Si, chez les animaux atteints de sialorrhée, on recueille de la salive et qu'on introduise celle-ci à la sonde dans l'estomac du lapin, le résultat est négatif. On peut, au contraire, obtenir un résultat positif avec une salive recueillie chez des animaux ne présentant aucune salivation et inoculée dans la chambre antérieure de l'œil. Il n'est donc pas impossible qu'exceptionnellement, la maladie d'Aujesky se transmette par morsure, de même qu'à titre exceptionnel, le tétanos et la syphilis peuvent être inoculés de cette façon, mais pratiquement, la morsure ne joue aucun rôle et c'est avec raison que les transmissions par les voies digestive, cutanée et nasale, se disputent seules la faveur des auteurs.

3° Contrairement à certains expérimentateurs, nous n'avons éprouvé aucune difficulté à inoculer la maladie d'Aujesky par voie intraveineuse (saphène externe chez le chien, auriculaire chez le lapin) ou intramusculaire (masse commune sacro-lombaire).

4° La voie auriculaire est à ajouter aux nombreuses voies



par lesquelles le virus est capable de contaminer les animaux d'expériences.

5° Le mode d'inoculation le plus intéressant, parce que selon toute vraisemblance, c'est par lui que l'affection se transmet dans la nature est l'ingestion. Chez le chien et chez le chat, alimentés avec des carcasses ou des viscères, c'est dans la totalité des cas que nous avons obtenu un résultat positif. Cette facilité de la contamination par voie digestive constitue entre la rage et la maladie d'Aujeszky un caractère différentiel important. Elle est de nature à prouver que le virus d'Aujeszky n'est nullement une variété du virus rabique, mais est pleinement autonome.

6° Un autre caractère différentiel entre la rage et la pseudo-rage est fourni par la facilité avec laquelle on vaccine contre la première et l'extrême difficulté avec laquelle on vaccine contre la seconde. Les essais d'immunisation du chat avec des cerveaux de lapins traités par le ricinoléate de sodium ont complètement échoué. Dans l'état actuel de nos connaissances, la vaccination est à rayer de la prophylaxie vétérinaire.

7° Une des particularités les plus curieuses de la maladie d'Aujeszky est la fréquence de la mort la nuit. Cette mort nocturne s'observe quelle que soit l'espèce animale inoculée et quel que soit le mode d'inoculation. Sur 726 animaux morts de pseudo-rage à l'Institut Pasteur de Tanger, 519 (71,48 p. 100) ont succombé de nuit et 207 (28,51 p. 100) de jour. La proportion des lapins qui meurent la nuit est, par rapport à ceux qui meurent le jour, comme 2 1/4 est à 1 ; celle des cobayes comme 2 est à 1 ; celle des chiens comme 4 est à 1 ; celle des chats comme 3 est à 1. Aucune des hypothèses susceptibles d'être émises pour expliquer ce curieux phénomène ne donne satisfaction.

8° Au frigorifique à + 6°, un cerveau de chat mort de la maladie d'Aujeszky est susceptible de conserver en glycérine sa virulence pendant quatre ans au minimum.

9° Des nombreux travaux auxquels la maladie d'Aujeszky a donné lieu ces dernières années, il résulte que dans tous les pays où l'affection est observée, les symptômes cliniques présentent la similitude la plus grande. Il en est de même des manifestations expérimentales. Le Mad Itch est identique au

virus hongrois; la souche française de la maladie d'Aujeszky ne diffère en rien des virus hongrois et américain. Il semble ainsi, que tout comme le virus rabique, le virus d'Aujeszky soit ce que Metchnikow appelait une « bonne espèce », un « bon virus » et que doive être épargnée aux biologistes la complication des Aujeszky A, B, C, D ou celle des Para virus.

## ESSAIS EXPÉRIMENTAUX SUR LA VALEUR PRATIQUE DES VACCINS ANTIRABIKES PHÉNIQUÉS

par P. LÉPINE et M<sup>lle</sup> V. SAUTTER.

*« L'intérêt qu'offrirait la vaccination par des moelles  
« non virulentes n'a pas besoin d'être signalé. Ce  
« serait à la fois un fait scientifique de premier ordre  
« et un progrès inappréciable de la méthode de pro-  
« phylaxie de la rage. »*

PASTEUR (Lettre à Duclaux,  
1<sup>er</sup> numéro de ces *Annales*, 1887).

La méthode pastorienne classique, telle qu'elle est appliquée à l'Institut Pasteur de Paris (méthode des moelles desséchées) après les modifications successives et suivant la technique actuelle qui ont été décrites ailleurs (1), donne, dans les conditions où elle est appliquée en France, des résultats qui avoisinent la perfection : absence de tout accident paralytique depuis l'année 1911, absence de toute mortalité depuis douze années consécutives (2). Il semblerait donc théoriquement inutile de rechercher d'autres méthodes vaccinales pour les comparer aux résultats obtenus par la méthode classique.

Plusieurs considérations d'ordre essentiellement pratique laissent penser cependant que les conditions optima observées à Paris sont loin de se retrouver partout et qu'on ne saurait, sans s'exposer à des désillusions dangereuses, généraliser les enseignements que l'on peut tirer des statistiques françaises. Il y a lieu, en effet, de faire les remarques suivantes :

a) On ne peut se dissimuler que les personnes mordues en France par des animaux enragés, ou suspects de rage, se présentent au traitement dans des conditions particulière-

(1) Voir pour la technique de l'Institut Pasteur et ses modifications depuis l'origine : P. Lépine et L. Cruveilhier, ces *Annales*, numéro commémoratif sur la Rage (supplément), 25 octobre 1935, p. 18.

(2) Cf. dans ces *Annales* la statistique du Service antirabique de l'Institut Pasteur, rapportée chaque année dans le numéro de juin.



ment favorables : rareté relative des morsures profondes, absence pratique de morsures par animaux sauvages, grande fréquence des morsures légères avec interposition de vêtements, début du traitement aussitôt après la morsure. D'autre part, la rage est en France à peu près exclusivement une rage canine, transmise de chien à chien, et si l'intervention d'animaux sauvages dans le cycle de la rage du chien reste une éventualité possible [Barbier (3)], elle n'en demeure pas moins un fait exceptionnel et les souches rabiques isolées dans la France continentale tendent de plus en plus à présenter une virulence inférieure à celle des souches rencontrées dans les régions moins privilégiées (Balkans, Afrique du Nord, Indes Anglaises et Néerlandaises). Rappelons enfin que par l'application des règlements sanitaires, la rage elle-même tend à devenir en Europe occidentale une maladie rare, et que, pratiquement, dans la plupart des instituts antirabiques des principaux pays d'Europe, la majorité des mordus suivant le traitement antirabique par mesure de sécurité entrent dans la catégorie C, pour laquelle le risque réel encouru est toujours difficilement appréciable, et, reconnaissons-le, bien souvent minime.

Il en résulte donc qu'on ne peut, de prime abord, comparer les conditions dans lesquelles se présentent au traitement les mordus en France, avec celles d'autres régions où l'on observe avec fréquence des morsures profondes et graves, causées par des carnivores sauvages, où l'interposition de vêtements est beaucoup plus rare par suite des habitudes locales, où les retards au traitement sont fréquents du fait, soit des distances à parcourir, soit de l'indolence ou de l'ignorance des mordus.

b) Il est indubitable que, si la méthode des moelles desséchées présente de grands avantages : efficacité malgré une faible concentration due à la présence du virus vivant, innocuité, ce virus ayant pratiquement perdu du fait de la dessiccation sa propriété de cheminer le long des nerfs [Lépine et Cruveilhier (4)], bénignité des réactions vaccinales par suite

(3) BARBIER (A.). *Les Sources de la virulence rabique*, Dijon, 1929.

(4) LÉPINE (P.) et CRUVEILHIER (L.). *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **119**, p. 1333.

de la faible quantité de protéines étrangères injectées pour le traitement, par contre, elle présente l'inconvénient de nécessiter une technique très rigoureuse et une grande minutie d'exécution pour la préparation des moelles ; elle ne peut être mise en œuvre que dans un Institut bien organisé, doté d'un personnel de confiance.

c) Enfin l'inévitable et inexorable évolution du virus fixe, sur laquelle nous avons ailleurs, après d'autres auteurs, attiré l'attention [Lépine, Cruveilhier et Sautter (5)] oblige à une surveillance fréquente, pour ne pas dire constante, des souches de virus fixe employées. L'augmentation de la virulence cérébrale sous l'influence des passages du virus fixe sans cesse répétés de cerveau à cerveau, l'augmentation de la sensibilité de ce même virus fixe à l'action destructrice de la dessiccation, qui ont déjà conduit à renoncer successivement pour le traitement antirabique aux moelles âgées de plus de dix jours, puis à celles de plus de cinq jours, enfin à la moelle de cinq jours elle-même, pour ne plus employer actuellement que les moelles de quatre jours et moins, conduisent à envisager comme une éventualité devant se réaliser dans un avenir plus ou moins lointain le moment où le virus médullaire devra être abandonné pour le virus cérébral.

Ces différentes raisons, mais surtout celles tirées de la gravité de la rage dans certains pays, ont conduit nombre d'Instituts antirabiques à adopter pour le traitement d'autres méthodes que la méthode des moelles desséchées.

Si l'on se réfère à la Sixième Revue Analytique (1935) de l'Organisation d'Hygiène de la S.D.N. [Mc Kendrick (6)], ou peut, par l'analyse des cas traités pour l'année considérée, se faire une idée de la proportion des différentes méthodes en usage dans le monde :

(5) LÉPINE (P.), CRUVEILHIER (L.) et SAUTTER (V.). Ces *Annales*, numéro commémoratif sur la Rage (supplément), 25 octobre 1935, p. 127.

(6) Mc KENDRICK, *Bull. trim. Organ. Hyg. de la S. D. N.*, 1935, 4, p. 777.

MÉTHODES	SUJETS TRAITÉS
1. Moelles desséchées . . . . .	14.747
2. Dilutions.. . . .	16.730
3. Vaccins phéniqués tués . . . . .	59.804
4. Vaccins phéniqués vivants (Puntoni). . . . .	301
5. Vaccin originel de Fermi (7). . . . .	351
6. Vaccins chauffés. . . . .	12.620
7. Vaccins éthérisés . . . . .	8 248
8. Vaccins mixtes . . . . .	5.261
	<hr/> 118 062

On voit qu'aujourd'hui plus de la moitié des mordus traités soit 60.436 individus sur 118.062, le sont avec des vaccins phéniqués (N<sup>os</sup> 3, 4, 5).

Il faut voir dans cette faveur croissante dont jouissent les vaccins phéniqués (faveur sur laquelle Remlinger (8) a justement attiré l'attention) l'influence, non seulement d'un mode facile de préparation permettant une conservation aisée et même l'envoi du vaccin, mais aussi l'effet exercé par les résultats favorables obtenus dans le traitement. En effet, si de l'ensemble des statistiques publiées par la S.D.N. (6<sup>e</sup> Revue Analytique), nous extrayons les chiffres de mortalité relatifs aux Européens traités dans les différentes parties du monde (ceci pour avoir des résultats s'appliquant à des individus mordus dans des conditions comparables), nous trouvons, pour 286.373 sujets traités :

		MORTALITÉ
Traités avec les vaccins tués . . . . .	80.581	0,14
Traités avec les vaccins vivants. . . . .	127.366	0,16
Traités avec les vaccins chauffés . . . . .	67.664	0,18
Traités avec les autres vaccins . . . . .	10.762	0,23

On voit par ces chiffres que les vaccins tués (représentés en pratique pour la quasi-totalité par les vaccins phéniqués) donnent des résultats qui, sur l'homme, se montrent au moins aussi favorables que ceux obtenus par les vaccins vivants atténués.

D'assez nombreux travaux expérimentaux, et notamment

(7) Il s'agit du séro-vaccin de Fermi.

(8) REMLINGER et BAILLY. *Bull. Ac. de Méd.*, 1935, **113**, p. 579.



ceux de Stuart et Krikorian (9), Cunningham et Malone (10), Cunningham, Malone et Craighead (11), Shortt, Malone et Craighead (12), ont confirmé l'efficacité et la valeur pratique des vaccins phéniqués, dont l'intérêt ne peut plus aujourd'hui être mis en doute.

Si les vaccins phéniqués ont donc pour eux une efficacité indiscutable et une relative facilité de préparation, il faut cependant reconnaître qu'on peut leur opposer les inconvénients tenant à l'obligation où l'on se trouve pour obtenir l'immunité d'injecter des quantités généralement plus élevées en volume et toujours beaucoup plus concentrées en protéines étrangères que cela n'a lieu avec la méthode des moelles deséchées.

L'expérience à laquelle nous avons procédé montre en effet que 1 c. c. de vaccin pastorien classique (obtenu en émulsionnant 4 millimètres de moelle desséchée dans 3 c. c. d'eau distillée) renferme 0 gr. 0052 d'extrait sec après dessiccation dans le vide, alors que 1 c. c. de vaccin phéniqué Fermi (émulsion cérébrale à 5 p. 100) renferme 0 gr. 0099 d'extrait sec, soit près du double par unité de volume. Si l'on admet un traitement d'une durée moyenne de quinze jours, avec l'un ou l'autre vaccin, au rythme quotidien d'une injection de 3 cent. cubes pour le vaccin classique, et de 5 cent. cubes pour le vaccin phéniqué, correspondant aux doses habituellement administrées, on voit qu'un malade traité par le vaccin pastorien aura reçu au bout de ce temps 0 gr. 234, et un malade traité par le vaccin Fermi 0 gr. 742, soit 3,17 fois plus, de substances étrangères à l'état sec.

Il y a donc nécessairement de grosses différences dans la quantité de protéines étrangères administrées aux mordus traités par l'une ou l'autre méthode.

Sur deux autres échantillons, un dosage de l'azote a montré, pour le vaccin préparé au moyen des moelles deséchées, une quantité de 208 milligrammes d'azote pour 100 cent. cubes, correspondant à 1 gr. 300 de matière protéidique pour 100, soit 13 milligrammes de matières protéidiques par centimètre cube, et pour le vaccin Fermi (virus cérébral phéniqué), une quantité de 490 milligrammes par 100 cent. cubes, correspondant à 3 gr. 0625 de matières protéidiques pour 100, soit 30 mil-

(9) STUART et KRIKORIAN. *J. of Hyg.*, 1929, **29**, p. 1. Id. *ibid.*, 1931, **31**, p. 523.

(10) CUNNINGHAM et MALONE. *Indian Med. Res. Memoirs*, 1930, Mémoire n° 15, Thacker, Spink and Co, Calcutta.

(11) CUNNINGHAM, MALONE et CRAIGHEAD. *Indian Med. Res. Memoirs*, 1933, Mémoire n° 26, Thacker, Spink and Co, Calcutta.

(14) SHORTT, MALONE et CRAIGHEAD. *Indian Med. Res. Memoirs*, 1934, Mémoire n° 28, Thacker, Spink and Co, Calcutta.

ligr. 62 par centimètre cube. Ce qui conduit à estimer que pour le traitement prophylactique le plus réduit, les mordus traités avec le vaccin classique reçoivent 0 gr. 585 de substances protéidiques (45 cent. cubes), alors que les mordus traités avec le vaccin phéniqué en reçoivent 2 gr. 296 (75 cent. cubes), soit 3,92 fois plus de matières protéidiques.

Ces chiffres sont d'accord *grosso modo* avec ceux qu'on a obtenus dans le dosage des poids secs des extraits. Les écarts constatés tiennent aux inévitables différences de concentration rencontrées d'un échantillon à l'autre dans les préparations de moelles desséchées, ce vaccin étant préparé à partir de quantités mesurées (et non pesées) de moelle qui sont ensuite triturées à la baguette, mode de préparation assurant une répartition moins homogène que le broyage utilisé dans la préparation du vaccin phéniqué.

# I. — CONDITIONS GÉNÉRALES DES EXPÉRIENCES.

Nous avons cherché à apprécier, dans des conditions expérimentales aussi rigoureuses que possible, l'efficacité du traitement antirabique, ayant en vue de confronter avec les résultats obtenus au moyen de la méthode classique (moelles desséchées) l'efficacité des vaccins phéniqués dits « tués » (13).

Nous avons pour cela comparé le degré de protection obtenu d'une part par le traitement classique, d'autre part par des vaccins phéniqués à concentrations diverses, chez des animaux recevant pendant le même temps des volumes identiques des différents vaccins.

Nous avons volontairement limité la durée d'immunisation à la durée minima admissible en thérapeutique humaine (quinze jours) et adopté des méthodes sévères d'épreuve des

(13) Notons de suite, à ce sujet, que les expressions de « vaccin vivant » et de « vaccin tué », appliquées respectivement à la méthode vaccinale par les moelles desséchées et aux vaccins phéniqués, sont aussi inexactes qu'est artificielle la distinction que l'on tend ainsi à établir entre différentes méthodes de vaccination qui sont toutes pastoriennes au même titre. Nous avons montré ailleurs (Lépine, Cruveilhier et Sautter, *loc. cit.*), que les moelles desséchées, *même après 24 heures de dessiccation*, pouvaient se montrer privées de virulence par inoculation intracérébrale, et, d'autre part, il est avéré (Fermi, Puntoni, etc.), que le vaccin phéniqué se montre *normalement* jusque vers le huitième ou dixième jour virulent par voie intracérébrale. De ce que, au delà de cette date, il se montre incapable de déclencher la rage, il ne s'ensuit pas nécessairement que le virus soit « tué ». Nous reviendrons ailleurs sur cette importante question de l'état du virus rabique dans le vaccin phéniqué.

animaux, ceci pour rendre appréciable au maximum la différence de valeur immunisante pouvant exister entre les méthodes vaccinales.

Il est bien évident, en effet, que les différences d'efficacité observées entre deux vaccins ne peuvent aller qu'en s'atténuant par la répétition des inoculations, le vaccin le moins efficace pouvant même, après un nombre suffisant d'injections, donner la même protection que celle assurée déjà avec moins de matériel vaccinant par le vaccin le plus actif.

D'autre part, il importe de ne pas perdre de vue qu'en matière de prophylaxie antirabique le facteur temps joue un rôle essentiel, l'infection de l'organisme étant déjà réalisée quand le traitement est commencé, et que par conséquent, à innocuité égale, le vaccin le meilleur sera celui permettant d'immuniser dans le moindre temps.

Nous avons, en outre, comme complément à ces expériences, comparé l'efficacité du pouvoir rabicide des sérums chez nos lapins vaccinés par les différentes méthodes, en prélevant, à des intervalles plus ou moins éloignés du moment de vaccination, du sérum dont l'efficacité était appréciée par la recherche du pouvoir neutralisant sur le virus fixe. Nous avons pu suivre ainsi comparativement la date d'apparition, le degré atteint et la durée de persistance du pouvoir rabicide des sérums. Ces recherches, dont les résultats ont confirmé ceux que nous donnons ici, seront rapportées ailleurs, dans un travail d'ensemble sur la question du pouvoir rabicide dans la vaccination expérimentale, rédigé en collaboration avec M. Cruveilhier.

Nos expériences ont été poursuivies du mois de mai 1935 au mois de février 1937, et ont comporté l'inoculation d'un grand nombre d'animaux, les animaux traités ayant donné lieu souvent à des passages de contrôle. D'autre part, il a été dans tous les cas procédé à l'examen histologique du névraxe de tous les animaux traités, qu'ils aient succombé à l'infection présumée rabique, ou qu'ils aient été sacrifiés après avoir résisté.

L'*animal* choisi a, dans toutes les expériences, été le lapin, les séries d'animaux traités se composant de 4, 6 ou 8 lapins réunis par groupes de poids égal, et comportant pour chaque série un groupe de témoins de nombre sensiblement égal.

La *durée* du traitement a été uniformément de 15 jours,



quel que soit le vaccin employé ou le mode d'épreuve administré.

Les doses de vaccin injecté ont été uniformément d'une injection quotidienne de 2 cent. cubes par voie sous-cutanée, quel que soit le vaccin employé ou le poids de l'animal. Nos résultats doivent donc être rapportés aux volumes de vaccins injectés et non aux poids de matières inoculées.

La souche vaccinnante de virus fixe a, dans tous les cas, été le virus fixe de l'Institut Pasteur (souche Pasteur, ou « Paris strain »), dont de nombreux travaux antérieurs (Stuart et Krikorian, etc.) ont démontré la haute valeur antigène, supérieure à celle des autres souches de virus fixe existant.

Seuls ont varié les vaccins essayés et les modes d'infection d'épreuve.

Les vaccins essayés ont été, dans toutes nos séries d'expériences sans exception :

a) D'une part, le vaccin préparé avec les moelles desséchées de 4, 3 et 2 jours. Il s'agissait du vaccin préparé le jour même pour le traitement des personnes mordues traitées à la consultation antirabique de l'Institut Pasteur et administré au lapin, suivant le même schéma de traitement que pour un traitement humain de 15 jours, mais à la dose de 2 cent. cubes au lieu de 3 cent. cubes, comme il a été dit plus haut.

b) D'autre part, des vaccins phéniqués ; ceux-ci ont varié dans leur mode de concentration et dans les procédés de préparation. Nous avons pris comme vaccin type le vaccin préparé d'après la méthode de Fermi, c'est-à-dire une émulsion à 5 p. 100 de matière cérébrale (lapin ayant succombé au virus fixe) dans l'eau physiologique phéniquée à 1 p. 100, maintenue pendant vingt-quatre heures à la température de 20-22° et utilisable au bout de ce temps ou conservée à la glacière (14).

Des essais comparatifs ont été faits avec des vaccins préparés suivant le même schéma, mais à un taux de 2 ou 3 p. 100.

Le vaccin de Fermi a été utilisé, soit immédiatement après sa préparation, soit dans un délai rapproché à la suite de sa

(14) Les détails techniques de la méthode suivie pour la préparation du vaccin phéniqué seront donnés ailleurs (*Rev. d'Hygiène*).

préparation (du 8° au 25° jour), soit, après un temps relativement prolongé de conservation à la glacière (vaccin conservé depuis deux mois, trois mois, et dans un essai, depuis six mois). Le vaccin phéniqué a également été essayé suivant la modification du procédé de Fermi due à Pereira da Silva, c'est-à-dire au même taux que le vaccin original (5 p. 100), mais après vingt-quatre heures d'atténuation à 37° avant l'utilisation ou l'emmagasinage à la glacière.

Enfin, dans un certain nombre de séries d'expériences, à titre de comparaison, il a été essayé un vaccin formolé au taux de 5 p. 100 de matière cérébrale, formolé à 1,5 p. 1.000 (15).

Le *mode d'épreuve* des animaux a varié selon les séries d'expériences.

a) Les lapins ont été traités le plus souvent *après* l'infection. Dans tous ces cas l'infection a eu lieu par inoculation intramusculaire (muscles de la nuque) de 0 c. c. 5 d'une émulsion centésimale décantée d'une souche de rage des rues. Le traitement a été commencé, selon les cas, vingt-quatre, quarante-deux, quarante-huit ou soixante-douze heures après l'infection.

b) Dans quelques séries le traitement a eu lieu *avant* l'infection d'épreuve, qui a été alors pratiquée généralement avec le virus fixe, soit par voie intracérébrale directe, soit par voie intraoculaire (chambre antérieure). Dans ce cas les animaux ont été infectés de trente à soixante jours après le début du traitement.

En raison de la virulence élevée du virus fixe et de la sévérité de l'infection par la voie cérébrale, nous avons été conduits à essayer le mode d'épreuve suivant :

Environ quarante-huit heures avant la date choisie pour l'épreuve de l'animal, celui-ci est saigné à la carotide, de façon à recueillir stérilement quelques centimètres cubes de sérum; pour l'épreuve, 0 c. c. 5 du sérum recueilli sont ajoutés à une quantité égale d'émulsion centésimale décantée de virus

(15) Signalons ici, pour n'avoir pas à y revenir, que si le vaccin formolé *frais* a donné des résultats comparables à ceux du vaccin phéniqué, sa durée de conservation paraît beaucoup plus limitée.

fixe, laissés en contact quelques heures à l'étuve, puis jusqu'au lendemain à la glacière, et l'animal éprouvé reçoit par voie intracérébrale 0 c. c. 20 du mélange de son propre sérum et de l'émulsion virulente. Ce mode de procéder nous a paru particulièrement apte à apprécier le degré d'immunité de l'animal, puisqu'il permet d'associer dans l'épreuve le pouvoir de résistance du névraxe (immunité cellulaire, qui joue le rôle essentiel) et le pouvoir neutralisant du sérum (immunité humorale, qui joue un rôle complémentaire) dans l'établissement de l'état réfractaire de l'organisme.

La même méthode a été employée pour éprouver au bout de trente, quarante-cinq, quatre-vingt-dix ou cent trente jours le degré d'immunité des lapins trouvés protégés par le traitement après infection préalable.

## II. — PROTECTION ANTIRABIQUE CONFÉRÉE AU LAPIN PAR UN TRAITEMENT DE QUINZE JOURS AVEC LE VACCIN CLASSIQUE (MOELLES DESSÉCHÉES) ET AVEC LE VACCIN PHÉNIQUÉ.

Nos expériences ont nettement fait ressortir un avantage en faveur du vaccin phéniqué par rapport au vaccin classique dans les conditions où ceux-ci étaient essayés. Ne pouvant rapporter ici l'ensemble des protocoles d'expériences, nous en donnerons un exemple avant d'analyser les résultats globaux obtenus dans les diverses séries d'expériences.

Le 23 octobre 1935 on prépare une émulsion centésimale de virus des rues (souche Saint, due à l'obligeance de M. Remlinger; émulsion cérébrale du lapin A 321, mort le 19 octobre de rage avec lésions histologiques typiques, cerveau conservé en glycérine). L'émulsion décantée est injectée à la dose de 0 c. c. 5 dans les muscles de la nuque, à 17 lapins qui sont ensuite pesés et numérotés après avoir été répartis en groupes comparables.

*Premier lot : témoins.* — Lapins A 324, A 325, A 326, A 327 et A 328. Meurent respectivement de rage (lésions histologiques typiques) en 19, 21, 20 et 18 jours.

*Deuxième lot : lapins traités avec vaccin aux moelles desséchées.* —  
a) Traitement commencé après vingt-quatre heures :  
A 329 meurt de rage (16) le 18<sup>e</sup> jour.

(16) Pour éviter les répétitions inutiles, spécifions que la formule « meurt de rage », sans autre détail, signifie *toujours* dans nos expériences : animal mort avec symptomatologie typique; culture de l'en-

A 330 meurt de rage le 18<sup>e</sup> jour.

A 331 *résiste* et survit.

b) Traitement commencé après 72 heures :

A 332 meurt de rage le 23<sup>e</sup> jour.

A 333 *résiste*.

A 334 meurt de rage le 23<sup>e</sup> jour.

*Troisième lot : lapins traités avec le vaccin phéniqué (formule Fermi).*

a) Traitement commencé après 24 heures :

Trois lapins :

A 335 meurt le 8<sup>e</sup> jour d'affection intercurrente (maladie du nez et pleurésie purulente); culture du cerveau et du sang négative. Examen histologique : Cerveau : ni infiltrations, ni lésions rabiques. Ganglion de Gasser : infiltration assez notable sans lésions rabiques cellulaires. Passage du cerveau par voie intracérébrale au lapin A 352 qui meurt rabique avec lésions typiques le 17<sup>e</sup> jour.

A 336 meurt de rage le 18<sup>e</sup> jour.

A 337 *résiste* et survit.

b) Traitement commencé après 72 heures :

A 338, A 339, A 340 : tous *résistent* et survivent.

*Remarques.* — a) La survie a été dans cette expérience de 2 lapins sur 6 avec le traitement classique, de 4 lapins sur 5 avec le traitement phéniqué. Le lapin A 335 ayant succombé à une infection intercurrente, la présence du virus dans son encéphale au 8<sup>e</sup> jour ne permet pas de préjuger de ce qui serait advenu si le traitement avait pu être continué jusqu'au bout.

b) Le fait que les lapins traités après soixante-douze heures ont résisté dans une proportion plus élevée que les lapins traités après quarante-huit heures constitue un paradoxe apparent. Celui-ci tient à ce que les groupes d'animaux traités après vingt-quatre heures ont été, dans l'un et l'autre lot, formés avec les lapins du plus faible poids : de 1.800 à 2.200 grammes; le groupe des lapins traités après soixante-douze heures comportait les lapins de 2.200 grammes et plus. Répétons que les animaux étaient répartis de façon parallèle dans chaque lot, de manière à ce que ceux-ci restent toujours comparables.

c) Tous les lapins de l'expérience ci-dessus qui ont survécu (2 traités classiques et 4 traités phéniqués) ont été éprouvés 91 jours après l'infection par inoculation de virus fixe dans la chambre antérieure de l'œil. Ils ont tous résisté à cette inoculation d'épreuve, qui n'a pu faire apparaître de différences dans le degré d'immunité. C'est pourquoi, dans toutes les séries d'expériences suivantes, il a été fait appel à un mode plus sévère d'inoculation : l'inoculation intra-cranienne de virus fixe, pur ou neutralisé avec le propre sérum de l'animal.

Dans l'ensemble, et dans les conditions qui ont été précisées, c'est-à-dire traitement limité à 15 injections de 2 cent.

céphale et du sang stérile sur les milieux usuels; examen histologique du névraxe montrant des lésions typiques avec présence de corps de Negri s'il s'agit d'une souche de virus des rues. En aucun cas, le diagnostic de rage n'a reposé sur la seule symptomatologie clinique.



cubes de vaccin, quel que soit le vaccin expérimenté et quelle que soit la méthode d'épreuve, mais les conditions étant égales d'ailleurs dans chacune de nos séries pour les vaccins essayés comparativement, *les chiffres globaux obtenus font apparaître une évidente supériorité du vaccin phéniqué sur le vaccin préparé à partir des moelles desséchées de deux, trois et quatre jours.*

En effet, sur 40 lapins vaccinés par la méthode des moelles ayant subi la vaccination à la suite de l'infection d'épreuve ou éprouvés après une série vaccinale complète, 14 ont résisté à l'infection rabique, alors que 26 ont succombé, ce qui donne pour la vaccination un pourcentage de protection efficace de 33 p. 100.

Dans les mêmes conditions, 52 lapins vaccinés avec les vaccins phéniqués aux différentes concentrations (2, 3 et 5 p. 100) et aux différentes températures de préparation (37° et 20-21°), éprouvés avant ou après vaccination, nous ont donné 32 survivants contre 20 décès, soit un pourcentage de protection de 61,7 p. 100. Ce chiffre de protection s'améliore encore si on limite dans les vaccins phéniqués, les séries envisagées aux préparations vaccinales qui ont donné les meilleurs résultats, soit le vaccin de Fermi (émulsion à 5 p. 100 atténuée à 20°), pour lequel nous avons, sur 36 lapins vaccinés et éprouvés, 28 survies contre 8 décès, soit un pourcentage de protection de 77,7 p. 100.

A titre de comparaison, 16 lapins vaccinés avec un vaccin à 5 p. 100 formolé à 1,5 p. 1.000, ont donné 9 protégés contre 16 décès, soit un pourcentage de protection de 56,2 p. 100.

Enfin, lorsque les lapins préalablement vaccinés ont subi l'épreuve la plus sévère (inoculation intracérébrale de virus fixe non neutralisé), le nombre des animaux ayant survécu a été de 1 sur 7 avec les moelles desséchées, de 4 sur 6 avec le vaccin phéniqué, de 0 sur 4 avec le vaccin formolé.

*Les meilleurs vaccins phéniqués permettent donc de protéger contre l'infection rabique plus du double (77,7 p. 100 contre 33 p. 100) des lapins infectés dans les mêmes conditions, mais traités par la méthode des moelles desséchées.*

### III. — INFLUENCE DU TAUX DE MATIÈRE CÉRÉBRALE DANS LE VACCIN PHÉNIQUÉ.

Nous avons essayé comparativement des vaccins renfermant 2, 3 et 5 p. 100 de matière cérébrale en suspension dans l'eau physiologique phéniquée au taux uniforme de 1 p. 100.

Toutes les fois qu'il a été fait usage d'une concentration de matière cérébrale vaccinant inférieure à 5 p. 100, les résultats ont été nettement inférieurs à ceux obtenus avec le vaccin 5 p. 100. Voici par exemple un de ces essais :

Le 9 mai 1936 on prépare une émulsion de virus des rues (souche Iran, reçue de l'Institut Pasteur de Téhéran, ayant pour origine un cas de rage humaine à la suite de morsure de loup. Emulsion du cerveau du lapin A 470 (mort de rage typique le 18<sup>e</sup> jour). On inocule 0 c. c. 5 d'émulsion centésimale décantée dans la nuque de 20 lapins groupés en séries parallèles : 4 témoins (B 5, B 6, B 7, B 8) meurent de rage du 16<sup>e</sup> au 24<sup>e</sup> jour ; les autres lapins sont tous traités au bout de quarante-huit heures avec les vaccins suivants :

#### 1<sup>o</sup> Moelles desséchées :

- B 13 : rage, meurt en 17 jours.
- B 26 : *résiste*.
- B 23 : rage, meurt en 22 jours.
- B 24 : *résiste*.

#### 2<sup>o</sup> Vaccin phéniqué à 3 p. 100 atténué à 20° :

B 9 : *résiste*; succombe à une infection intercurrente après 28 jours (pneumonie; pas de lésions histologiques du cerveau; passages de l'encéphale négatifs).

- B 10 : *résiste*.
- B 11 : meurt de rage en 16 jours.
- B 12 : meurt de rage en 17 jours.

#### 3<sup>o</sup> Vaccin phéniqué à 5 p. 100 atténué à 37° :

B 14 : *résiste*; meurt d'infection intercurrente après 39 jours (cocci-diose hépatique; examen histologique du névraxe négatif, passage négatif).

- B 15 : meurt de rage après 26 jours.
- B 16 : *résiste*.
- B 17 : *résiste*.

4° Vaccin à 5 p. 100 formolé à 1,5 p. 1.000, atténué à 20° :

B 19 : *résiste.*

B 25 : *résiste.*

B 21 : meurt de rage en 16 jours.

B 23 : *résiste.*

*Remarques.* — a) Le pourcentage de protection a été de 2 lapins sur 4 pour les moelles desséchées comme pour le vaccin phéniqué à 3 p. 100, alors qu'il a été de 3 lapins sur 4 pour le vaccin phéniqué à 5 p. 100, mais atténué à 37° et pour le vaccin formolé (dont les résultats se montrent dans l'ensemble inférieurs à ceux du vaccin phéniqué à 5 p. 100 atténué à 20°).

b) Tous les lapins ayant résisté à cette épreuve ont été saignés au bout de quarante jours et leur sérum a servi à neutraliser une émulsion centésimale de virus fixe, qu'ils ont reçue en injection intracérébrale. Seul le lapin B 26 (vacciné par les moelles desséchées) a résisté à cette épreuve; tous les autres ont succombé le 10<sup>e</sup> jour. Dans cette expérience au moins, les lapins survivants vaccinés par les méthodes différentes de la méthode classique n'ont pas présenté un degré d'immunité supérieure à celle des lapins vaccinés par les moelles desséchées.

Il y a lieu de renoncer aux vaccins phéniqués comportant moins de 5 p. 100 de matière cérébrale, comme moins efficaces.

L'essai de vaccins contenant une proportion de matière cérébrale supérieure à 5 p. 100 a donné lieu à des phénomènes d'induration locale pouvant entraîner des difficultés de résorption. *Le taux de 5 p. 100 en matière cérébrale paraît donc bien représenter la concentration optima à adopter pour les vaccins phéniqués.*

#### IV. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE D'ATTÉNUATION SUR L'EFFICACITÉ DU VACCIN PHÉNIQUÉ.

Dans de nombreuses publications, Fermi (17) et ses élèves, notamment Mulas (18), insistent sur la nécessité, en préparant le vaccin phéniqué, d'atténuer celui-ci pendant vingt-quatre heures à 20-21° (méthode originale Fermi), et non à

(17) Cf. notamment : Cl. Fermi, *Revue critique sur les principales méthodes antirabiques*. Sassari, 1934.

(18) MULAS (F.). *Rev. Hyg.*, 1936, **58**, p. 419.

37° (modifications de Semple ou de Pereira da Silva), en raison des différences d'efficacité considérables qu'on observerait au détriment des vaccins atténués à 37°.

Si la concentration en matière cérébrale du vaccin phéniqué a, dans nos expériences, présenté une importance primordiale, toute diminution du taux au-dessous de 5 p. 100 réduisant nettement l'efficacité du vaccin, par contre l'influence de la température d'atténuation ne ressort pas d'une manière aussi immédiatement évidente. Ce n'est qu'en comparant l'ensemble des résultats obtenus qu'on aperçoit une balance en faveur du vaccin atténué à 20° (77,7 p. 100 contre 71,2 p. 100), un certain nombre d'expériences ayant donné des résultats presque équivalents avec le vaccin phéniqué (5 p. 100) atténué à 20° ou à 37°. Il est vrai que, dans tous les cas où les résultats ont été sensiblement identiques (3 séries d'expériences), il s'agissait de vaccins fraîchement préparés (de trois à vingt jours. C'est surtout — c'est du moins ce que nos expériences l'ont apparaître, mais avec un nombre relativement trop faible d'animaux pour en tirer des conclusions absolues — si l'on fait appel pour la vaccination à des vaccins conservés depuis longtemps (plus de trente jours), que les différences entre les deux modes d'atténuation deviennent plus évidentes.

Néanmoins, comme nos expériences ont souligné d'une manière frappante l'innocuité, qui a été constante, du vaccin atténué à 20° (absence de tout accident paralytique ou de transmission de virus rabique fixe par injection sous-cutanée), que l'ensemble des résultats fait apparaître une différence en faveur de ce dernier mode d'atténuation et que celui-ci semble bien devoir être *a priori* moins délétère pour le virus atténué qu'une température plus élevée, *il nous paraît recommandable d'adopter la température d'atténuation de 20-21° de préférence à celle de 37°, pour la préparation du vaccin phéniqué.*

#### V. — INFLUENCE DE LA DURÉE DE CONSERVATION SUR L'EFFICACITÉ DU VACCIN PHÉNIQÜÉ.

L'un des principaux avantages que les différents auteurs attribuent à la vaccination par les vaccins tués comparative-



ment à la méthode classique, tient à ce que cette dernière ne se prête pas à une conservation du vaccin, qui est, au contraire, parfaitement possible avec les vaccins phéniqués.

Nous avons recherché quelle était, sur l'efficacité du vaccin phéniqué, l'influence de la durée de conservation à la température de la glacière (+ 5° C.).

Il est certain que les vaccins phéniqués conservés à la température de la glacière, quelle que soit la température à laquelle ils ont été atténués au cours de leur préparation, conservent pendant assez longtemps leur efficacité. On n'observe pas de différences notables pour les vaccins ayant moins de deux mois de conservation. Voici, par exemple, une expérience au cours de laquelle il a été essayé des vaccins préparés depuis vingt-cinq jours.

Le 8 février 1936, on infecte 18 lapins (rage des rues, voie intramusculaire occipitale). 4 témoins meurent du 18<sup>e</sup> au 20<sup>e</sup> jour. Les animaux traités après quarante-huit heures sont répartis ainsi :

*1° Traitement par les moelles desséchées.*

A 446 : rage, 30 jours.

A 447 : rage, 32 jours.

A 449 : rage, 32 jours.

A 450 : résiste.

*2° Vaccin phéniqué 5 p. 100 atténué à 20°, vieux de 25 jours  
(conservation à la glacière).*

A 452 : résiste.

A 453 : malade, meurt le 9<sup>e</sup> jour, présence de lésions histologiques de rage, passage positif.

A 454 : résiste.

A 455 : résiste.

*3° Vaccin phéniqué 5 p. 100, atténué à 37°, vieux de 25 jours*

A 459 : résiste.

A 460 : résiste.

A 461 : rage, 22 jours.

*4° Vaccin formolé frais préparé le 7 février.*

A 456 : résiste.

A 457 : résiste (meurt de pneumonie le 50<sup>e</sup> jour, pas de lésions rabiques).

A 458 : résiste.

Les animaux ayant résisté sont éprouvés 131 jours après l'infection par injection intracérébrale d'un mélange de virus fixe et de leur sérum.

Les lapins A 450 (moelles desséchées), A 459 (phéniqué 37°) et A 458 (vaccin formolé) succombent le 10<sup>e</sup> jour.

Les lapins A 452, A 454, A 455 (phéniqué 20°) et A 460 (phéniqué 37°) résistent à cette épreuve.

*Remarques.* — Cette expérience met en valeur :

a) L'efficacité des vaccins à 5 p. 100, phéniqués ou formolés, supérieure à la vaccination classique.

b) La valeur vaccinnante du vaccin phéniqué conservé pendant vingt-cinq jours à la glacière.

c) Les animaux vaccinés avec le vaccin atténué à 20° ont présenté une résistance ultérieure supérieure à celle des animaux vaccinés par les autres procédés.

D'autres essais nous ont montré :

1° Que les vaccins phéniqués conservés trois mois à la glacière ont conservé une part importante de leur pouvoir immunisant (protection 66 p. 100).

2° Que les vaccins conservés depuis six mois à la glacière sont encore efficaces, mais présentent un pouvoir vaccinant diminué par rapport aux vaccins précédents.

*Il semble donc qu'on puisse fixer à deux mois au moins la durée de conservation à la glacière des vaccins phéniqués.* Cette durée de conservation pourrait, dans la pratique courante, être réduite à un mois ou six semaines, de manière à garantir une efficacité constante dans tous les cas.

## VI. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

De nos expériences, pratiquées sur des lapins qui ont reçu la dose uniforme de 30 cent. cubes de vaccin en quinze jours et qui ont été éprouvés suivant des modes particulièrement sévères, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° Les lapins vaccinés par la méthode des moelles desséchées avec le vaccin et suivant la progression utilisés à l'Institut Pasteur de Paris (où ce vaccin montre depuis douze ans une efficacité de 100 p. 100 dans la protection de l'homme), ont été protégés dans la proportion de 35 p. 100 contre l'infection rabique.

2° Les lapins vaccinés avec des vaccins phéniqués (renfer-

mant selon les cas de 2 à 4 fois plus de matières protéïdiques) ont été protégés contre l'infection rabique dans la proportion globale de 61,7 p. 100.

3° Parmi les lapins ayant été vaccinés au moyen des vaccins phéniqués, ceux qui ont reçu un vaccin préparé au taux de 5 p. 100 de matière cérébrale phéniquée à 1 p. 100 atténué à 20° ont été protégés dans la proportion de 77,7 p. 100

4° Les vaccins phéniqués renfermant un pourcentage de matière cérébrale inférieur à 5 p. 100 ont montré une efficacité notablement réduite, mais restant le plus souvent supérieure à celle des vaccins aux moelles desséchées.

5° Les vaccins phéniqués à 5 p. 100, atténués pendant vingt-quatre heures à la température de 20-22°, ont la même innocuité et paraissent en outre plus efficaces que les vaccins au même taux atténués à la température de 37°, lorsque ces vaccins sont frais : ils sont notablement plus actifs lorsque ces vaccins ont été conservés un certain temps.

Le vaccin antirabique le plus efficace parmi ceux essayés dans les conditions précitées est par conséquent un vaccin préparé selon la formule de Fermi, en émulsionnant au taux de 5 p. 100 les cerveaux de lapins rabiques (virus fixe, souche Pasteur) dans l'eau physiologique phéniquée à 1 p. 100, utilisable après vingt-quatre heures d'atténuation à la température de 20-21°, et pouvant être conservé à la glacière pendant deux mois sans diminution notable de son efficacité.

# RECHERCHES SUR LES AFFINITÉS TROPHIQUES DES ANOPHÈLES D'INDOCHINE

DEUXIÈME NOTE (1)

*ANOPHELES VAGUS* A. MINIMUS, A. JEYPORIENSIS et A. ACONITUS

par H. GASCHEN et J. RAYNAL.

(Institut Pasteur de Hanoï, service antipaludique.)

## II. — *ANOPHELES VAGUS* DÖNITZ 1902

Cette deuxième partie de notre travail sur les affinités trophiques en fonction de l'indice maxillaire des Anophèles d'Indochine Nord, concerne tout d'abord des études portant sur un millier de *A. vagus*, dont nous avons effectué parallèlement la numération dentaire et l'examen du contenu stomacal par la méthode des précipitines. Nous pouvons dès lors comparer leurs habitudes biologiques à celles de *A. sinensis* qui ont fait l'objet d'une note précédente (1).

### Indice maxillaire moyen de « *Anopheles vagus* »

L'armement maxillaire des *Anopheles vagus* récoltés au Tonkin et utilisés pour la réaction des précipitines nous a donné, en moyenne, des valeurs supérieures à 14 dents (la presque totalité des indices maxillaires est comprise entre 12 et 18 dents comme pour *A. sinensis*.)

Les recherches antérieures, faites il y a trois ans, avaient conclu au même type d'indice maxillaire.

ANNÉES	<i>A. vagus</i> examinés	INDICE maxillaire
—	—	—
1932. . . . .	359	14,2
1933. . . . .	1.028	14,12

L'armement est donc celui d'une espèce nettement zoophile comme pour *A. sinensis*; ce dernier nous avait montré une remarquable stabilité quant à l'indice maxillaire moyen; nous

(1) Voir : H. GASCHEN et J. RAYNAL. (Première note), *Anopheles hyrcanus* var. *sinensis*. Ces *Annales*, t. 57, 1936, p. 311.



la constatons également pour *A. vagus* et nous rappelons qu'elle a été déjà mise en valeur à plusieurs reprises par Roubaud, pour une même espèce, dans une région donnée, lors de ses nombreuses études sur *A. maculipennis*, en Vendée.

La répartition des indices maxillaires suivant qu'ils sont inférieurs, égaux ou supérieurs à 14 dents donne les valeurs suivantes :

ESPÈCES	< 14 DENTS		≥ DE 14 DENTS	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
<i>Vagus</i> . . . . .	370	36	658	64
<i>Sinensis</i> (pour comparaison) . .	115	8	977	92

Ces chiffres diffèrent suivant que l'on considère *A. vagus* et *A. sinensis*; ils ne comportent pas, toutefois, comme signification, une restriction quant aux habitudes zoophiles du premier. L'indice maxillaire moyen de *vagus* et les résultats de l'étude de son contenu stomacal que nous abordons plus loin, l'éloignent des espèces anthropophiles, et plaident nettement en faveur d'un tropisme animal.

Examinons maintenant la variation de détail de cet indice dans un certain nombre de localités groupées par sites.

SITES	LOCALITÉS	NOMBRE d'examen	INDICE maxillaire moyen
—	—	—	—
0 . . . . .	Van-Ly.	68	13,85
	Do-Haï.	195	13,57
	Haiduong.	101	14,50
I . . . . .	Nguyen-Xa (route de Phuly).	30	14,19
	Ngoi-Khi (route de Nam-Dinh).	29	14,00
	Chu-Nguyen.	82	14,49
II . . . . .	Voi.	58	14,13
	Vinh-Yên.	24	14,04
	Viétri.	96	14,47
III . . . . .	Pho-Moi.	24	14,00
	Cho-Ganh.	41	14,23
	Phu-Ho.	100	14,00
IV . . . . .	Hoà-Binh.	18	14,38
	Phuong-Lâm.	69	14,21

D'après ce tableau, les localités du site O, c'est-à-dire de la région maritime, où *A. vagus* en association avec *A. subpictus* se développe dans des collections d'eau saumâtre, sont les seules dans lesquelles *A. vagus* possède (en moyenne) un indice maxillaire inférieur à 14 dents.

Ce point est important, car il laisse entrevoir l'existence de races.

L'étude de la biologie comparée de diverses souches de *A. vagus* pourra seule préciser si l'on a vraiment affaire à des races différentes de la même espèce.

### Affinités trophiques de *A. vagus*.

Les recherches que nous avons effectuées par la méthode des précipitines sont basées sur l'examen des mêmes individus (1.028 exemplaires). Elles ont donné, du fait de réactions mixtes, un total de 1.199 *tests* (2).

Ces *tests* se répartissent comme suit :

Sur buffles . . . . .	787	65,6 p. 100
Sur bœufs . . . . .	233	19,3 —
Sur moutons, chèvres . . . . .	56	4,9 —
Sur porc . . . . .	15	1,3 —
Sur cheval . . . . .	10	0,9 —
Sur chien . . . . .	1	0,08 —
Indéterminé . . . . .	97	8,0 —

1° Comme première constatation, nous voyons que sur 1.028 examens le sang humain n'a jamais été décelé.

(2) Les réactions simples sont comptées pour un « test » (853 réactions à un seul sérum anti).

Les réactions mixtes (contenu stomacal réagissant à plusieurs sérums anti, soit 147 réactions à 2 sérums, 8 réactions à 3 sérums et 2 réactions à 4) sont comptées pour autant de tests qu'il y a d'espèces animales décelées dans le sang.

Bien que nous ayons obtenu la plupart du temps des différenciations nettes entre sang de chèvre et sang de mouton, nous groupons ces deux espèces, cette question faisant encore l'objet de nombreuses discussions entre les divers auteurs. De nouvelles recherches sont nécessaires pour préciser le titre des sérums qui permettrait une différenciation incontestable. Quant à la différenciation Bœuf-Buffle, nos expériences nous ont montré que des sérums titrant le 1/2.000 ou le

Toutefois, ce résultat ne paraît pas devoir être interprété de façon rigoureuse et il n'autorise pas à affirmer d'emblée une zoophilie exclusive.

En Cochinchine, Mesnard et Toumanoff (3) ont trouvé 6 *vagus* gorgés de sang humain pour 168 précipito-réactions; plus tard (4) Toumanoff donnait le résultat de 488 réactions sur la même espèce, avec 10 réactions positives pour l'homme.

Bien que nous sachions que les affinités des anophèles varient considérablement suivant les régions, en raison sans doute des facteurs météorologiques qui facilitent ou entravent le contact des moustiques avec l'homme (Roubaud), nous ne saurions affirmer que les conditions dans lesquelles nous avons effectué nos captures n'aient pas favorisé des résultats aussi absolus que les nôtres. Nous savons, d'autre part, que dans les conditions expérimentales, en captivité, *A. vagus* se gorge facilement sur le bras de l'homme; nous avons eu aussi l'occasion de constater que *A. vagus* pique l'homme dans la nature. Au cours d'une soirée passée dans une station balnéaire, l'un de nous a capturé sur lui-même 10 anophèles en train de se gorger : 6 *A. subpictus* et 4 *A. vagus*. Il est vrai que là, les anophèles se trouvaient en contact immédiat avec la population stable (pêcheurs, sampaniers) et la population occasionnelle (estivants). Le bétail (bovidés et bubalidés) était éloigné, à la périphérie de l'agglomération, dans des étables ouvertes, largement aérées. L'attaque de l'homme était donc le fait d'un contact très étroit avec lui, renforcé par l'absence ou la rareté des animaux exploitables.

2° Un autre point intéressant est le suivant : buffles et bœufs ont été piqués dans une proportion de 85 p. 100, tandis que les autres animaux (mouton, porc, chèvre, cheval, chien) ne l'ont été que dans 7,2 p. 100 des cas; le solde 6,8 p. 100 représente les cas où l'origine du sang n'a pu être déterminée.

Nous arrivons à ce point de vue aux mêmes résultats que

1/3.000 permettent d'éviter les coprécipitations et de séparer d'une façon certaine les Bovidés des Bubalidés.

(3) J. MESNARD et C. TOUMANOFF. *Trans. Ninth Congress Far East. Assoc. Trop. Med.* Nanking, 2, 1934, p. 53-63.

(4) C. TOUMANOFF. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1934, vol. 27, p. 932.

Mesnard et Toumanoff dans le Sud de l'Indochine. Les recherches de ces auteurs leur avaient permis en effet de conclure que « *A. vagus* se gorge fréquemment de sang de buffle », et que même dans les cas de stabulation très sommaire il se montre franchement zoophile.

En Indochine Nord, *A. vagus* est très fréquemment gorgé de sang de bovidés, et le buffle paraît être plus recherché que le bœuf (65,1 p. 100 gorgés sur buffle, 20,7 p. 100 gorgés sur bœuf) par cette espèce anophélienne.

### Cas particuliers.

L'étude détaillée des conditions offertes à *A. vagus* dans divers centres peut nous permettre (comme pour *A. sinensis*) d'entrevoir les raisons de ses affinités.

PHU-HO. — Nous avons précédemment décrit cette station agricole (*loc. cit.* 4) ; les résultats pour *A. vagus* (indice maxillaire moyen 14,0) ont été les suivants :

NATURE DES HOTES	PROPORTION p. 100 du total	PROPORTION p. 100 des tests par espèce
Hommes . . . . .	25	»
Bœufs. . . . .	45	29
Buffles . . . . .	9	71
Moutons, chèvres, chevaux . . . . .	20,5	»

On constate que malgré une forte proportion de bœufs, le sang de buffle a été reconnu dans 71 p. 100 des cas. Aucun moustique n'a été trouvé gorgé de sang d'homme.

Sur 101 anophèles disséqués, 74 avaient été capturés dans les habitations, 27 dans les étables. Cette proportion indique aussi que les femelles de *A. vagus* ont l'habitude de se réfugier dans les habitations à la fin de leur repas de sang sur les animaux.

CHO-GANH. — Indice maxillaire 14,23.

Sur 47 *A. vagus* disséqués, 43 provenaient des étables et 4 d'une habitation seule nettement séparée

Nous avons déjà vu (*loc. cit.* 4) que l'important cheptel de cette concession est constitué par des bœufs (80,2 p. 100), des



buffles (1,3 p. 100) et divers autres animaux (10 p. 100 environ); les habitants de la concession représentent 8,6 p. 100 des êtres vivants.

L'énorme supériorité du nombre de bœufs par rapport à celui des buffles, explique sans doute que les pourcentages des précipitines, contrairement à ce que nous avons observé ailleurs, soient plus faibles pour le buffle :

La présence de sang de buffle a été constatée à un taux de . . . . .	23 p. 100
La présence de sang de bœuf a été constatée à un taux de . . . . .	33 —
La présence de sang des autres animaux (chèvres, moutons) a été constatée à un taux de . . . . .	49 —
La présence de sang indéterminé a été constatée à un taux de . . . . .	3 —

*A. vagus* a cependant montré comme ailleurs une affinité très marquée pour l'ensemble des bovidés (76 p. 100), les autres animaux ne représentant que 24 p. 100 des réactions.

VAN-LY et DO-HAI. — Van-Ly et Do-Hai sont deux localités riveraines du golfe du Tonkin, villages de pêcheurs et de saulniers chez qui l'agriculture et l'élevage du bétail sont des préoccupations secondaires, limitées aux besoins domestiques

La population y est très dense; le bétail est constitué non par des troupeaux, mais par des têtes isolées; il n'y a donc pas de grandes étables mais, adossé à chaque maison, un petit appenti abritant un buffle. Ces locaux sont les gîtes de milliers d'anophèles gorgés. Les résultats entomologiques et sérologiques pour ces deux localités sont reportés dans le tableau ci-dessous :

STATIONS	TOTAL des <i>A. vagus</i> examinés	INDICE MOYEN	CAPTURÉS dans		RÉSULTATS SÉROLOGIQUES en pour 100 présence de sang de			
			Habitations	Etables	Buffle	Bœuf	Chèvre, mouton porc	Espèces animales indéterminées
Do-Hai. . . . .	203	13,50	200	3	66	19	3	10
Van-Ly, Xuong-Dien .	72	13,85	17	55	61	33	4	1

Les recherches faites à Van-Ly étaient motivées par le fait de son insalubrité. Aucun moustique n'y ayant encore été trouvé infecté, les soupçons pouvaient se porter sur *A. vagus*. Les résultats obtenus semblent montrer que ce *Pseudo-myzomyia*, pas plus que dans d'autres localités, ne paraît servir là l'agent vecteur.

VIÉTRI. — Viétri, au confluent du Fleuve-Rouge et de la Rivière-Claire, est une agglomération autour de laquelle existent de nombreuses paillottes où diverses espèces d'animaux domestiques sont représentées. Les buffles prédominent; viennent ensuite les bœufs, les porcs, etc. Une centaine de précipito-réactions ont été faites sur *A. vagus* capturés dans les chambres et dépendances des casernes; même dans ce cas pourtant favorable, aucun insecte gorgé de sang humain n'a été déterminé.

L'indice maxillaire moyen a donné la valeur de 14,47.

Les piqûres sur les divers animaux se répartissent ainsi :

Sur buffle. . . . .	56,0 p. 100	}	Total sur Bovidés :
Sur bœuf . . . . .	14,4 —		70,4 p. 100.
Sur porc . . . . .	9,1 —	}	Total sur les autres animaux :
Sur mouton . . . . .	6,8 —		
Sur cheval. . . . .	5,3 —		
Sur chien . . . . .	0,8 —		
Indéterminé. . . . .	7,6 —		22 p. 100.

Dans toutes les autres localités où des précipito-réactions ont été faites sur *A. vagus*, nous avons eu des résultats semblables; aussi bien dans des centres fortement impaludés (Yên-Biên, Coc-Lêu, Hoà-Binh) que dans des localités saines (Lémy, Doson); aussi bien dans la Haute-Région tonkinoise (Laokay, Hagiang, Phuong-Lâm) que dans la Moyenne-Région (Phu-Doan, Chu-Nguyen, Than-Binh) ou dans les nombreux points du Delta du Fleuve-Rouge (Hanoï, Haïduong, Ngoi-Ké) prospectés en vue de l'étude des affinités trophiques des anophèles.

### Conclusions.

Sur un total de 1.028 exemplaires de *A. vagus* examinés, nous avons obtenu les résultats suivants :

1° Le nombre des dents maxillaires variait de 12 à 18; l'indice maxillaire moyen est de 14,1. *L'armement maxillaire de A. vagus est donc celui d'une espèce multidentée.*

2° Ainsi que cela a été constaté pour d'autres espèces, la stabilité de l'indice maxillaire moyen s'affirme pour l'*A. vagus* du Tonkin, à plusieurs années d'intervalle, puisqu'il était de 14,2 en 1932.

3° Les valeurs inférieures à 14 sont obtenues en grosse majorité pour les *A. vagus* du littoral; cela permet de soupçonner l'existence de races adaptées aux eaux saumâtres.

4° La méthode des précipito-réactions n'a dans aucun cas décelé le sang humain, bien que plus de 750 *A. vagus* aient été capturés dans les habitations. Cette observation faite chez une espèce multidentée implique donc que *A. vagus est en Indochine une espèce nettement zoophile.*

5° Buffles et bœufs sont les animaux recherchés de préférence par *A. vagus* et dans presque toutes les situations le buffle paraît plus volontiers attaqué que le bœuf.

### III. — *ANOPHELES MINIMUS* THEOBALD 1901 ET *ANOPHELES JEYPORIENSIS* JAMES 1902

Cette troisième partie de nos recherches étudie simultanément, d'une part, l'armement maxillaire, et, d'autre part, par la méthode des précipitines, la nature du contenu stomacal d'un millier d'anophèles femelles appartenant à deux espèces paucidentées, bien cataloguées comme *vectrices majeures* du paludisme au Tonkin : *Anopheles minimus* Théobald 1901 et *Anopheles jeyporiensis* James 1902.

Cette étude va nous permettre de comparer, dans leur comportement, ces espèces aux espèces multidentées dont nous nous sommes précédemment occupés : *Anopheles hyrcanus*, var. *sinensis* Wied. *Anopheles vagus* Dön.

Parmi les espèces paucidentées, c'est surtout *A. minimus* qui a été étudié au point de vue de ses affinités trophiques; Laurel, aux Philippines (5), Mesnard et Toumanoff, en Co-

(5) LAUREL, P. I. Health Serv. Month. Bull., 10, 1930, p. 153 et 537 ; in HOLT et RUSSEL. Philip. Jl. of Science, 49, n° 3, 1932.

chinchine (6), Jackson (7) et Toumanoff (8) à Hongkong ont reconnu la nature essentiellement anthropophile de cet insecte et signalent en outre les animaux qui paraissent se substituer à l'homme lorsque celui-ci vient à manquer.

*A. jeyporiensis* n'a pas encore fait l'objet d'autant de recherches; Toumanoff signale que sur 113 dissections il a trouvé du sang humain chez 59 de ces insectes, ce qui montrerait déjà nettement l'importance de l'homme dans l'alimentation de ce *Myzomyia*.

A Hongkong, Toumanoff (9) a aussi obtenu un pourcentage élevé de *A. jeyporiensis* gorgés de sang humain, mais il trouve que dans des localités où le bétail est bien stabulé, *A. minimus* et *A. jeyporiensis* entre autres, peuvent aussi attaquer les bovidés.

### Indices maxillaires moyens.

Comme dans les notes précédentes, nous n'avons utilisé pour le calcul de l'indice maxillaire que les échantillons des moustiques également étudiés au point de vue des affinités trophiques.

Nous avons eu à notre disposition un total de 494 *A. minimus* et 501 *A. jeyporiensis*. Les valeurs des indices maxillaires globaux sont à quelques dixièmes près égales à celles obtenues

	ANNÉES	ORIGINE	<i>A. minimus</i>		<i>A. jeyporiensis</i>	
			Examens	Indices maxima	Examens	Indices maxima
Roubaud, Toumanoff et Gaschen.	1932	Indochine Nord.	216	11,3	55	11,9
Toumanoff . . . . .	1934	Indochine Sud.	208	11,3	87	11,8
Gaschen et Raynal . . . . .	1935	Indochine Nord.	494	11,6	501	12,0

(6) MESNARD et TOUMANOFF. *Transact. Ninth Congress. Far East Trop. Med.*, Nankin, 1934, A., p. 53.

(7) JACKSON. *Transact. Ninth Congress Far East Trop. Med.*, Nankin, 2, 1934, p. 27.

(8) TOUMANOFF. *Bull. Path. Exot.*, 1934, p. 745.

(9) TOUMANOFF (*Loc. cit.*).



dans le Sud par Toumanoff (10) et à celles déterminées à Paris, il y a trois ans, grâce au matériel reçu au Tonkin (11).

Afin de mettre éventuellement en évidence des variations possibles, locales ou suivant les sites (12), nous donnons dans le tableau suivant l'indice maxillaire moyen déterminé sur différents lots d'anophèles groupés d'après la localité où ils furent capturés :

		<i>A. i minimus</i>		<i>A. jeyporiensis</i>	
		Examens	Indices maxima	Examens	Indices maxima
Site III.	Tha-Binh. . . . .	26	11,7	34	12,2
	Cho-Ganh. . . . .	31	11,1		
	Lemy. . . . .			20	12,0
	Phu-Ho. . . . .			97	12,1
Site IV.	Vin-Tuy. . . . .	104	11,7	22	12,2
	Ha-giang. . . . .	68	11,0	240	12,0
	Yen-Bien. . . . .	215	11,9		

Les variations maxima de cet indice moyen sont très faibles, aussi bien pour *Anopheles minimus* (0,8) que pour *Anopheles jeyporiensis* (0,2) ; on peut en conclure que : dans les diverses régions que nous avons étudiées au Tonkin, l'indice maxillaire de ces deux espèces anophéliennes ne varie que dans des limites négligeables.

D'autre part, le nombre plus ou moins grand des examens n'entraîne pas, pour chacune des espèces envisagées, de modifications sensibles dans l'indice maxillaire moyen. Nous nous en sommes assurés en calculant l'indice maxillaire sur des quantités d'*Anopheles minimus* variant de 25 à 474 et pour lesquels nous avons obtenu les valeurs suivantes :

(10) TOUMANOFF. *Trans. Ninth Congress Far East Assoc. Trop. Med.*, Nankin, 2, 1934, p. 37.

(11) ROUBAUD, TOUMANOFF et GASCHEN. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 26, 1933, n° 2, p. 283.

(12) Pour la définition des sites, Cf. TOUMANOFF. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 9 nov. 1932, et travaux ultérieurs.

NOMBRE d'examins	INDICE maxillaire
25 . . . . .	11,6
50 (y compris les précédents). . . . .	11,4
75 (y compris les précédents). . . . .	11,3
100 (y compris les précédents). . . . .	11,3
125 (y compris les précédents). . . . .	11,4
150 (y compris les précédents). . . . .	11,5
474 (y compris les précédents). . . . .	11,6

Il est intéressant de noter, ainsi que nous l'avons fait pour *A. sinensis* et *A. vagus*, la répartition des indices maxillaires suivant qu'ils sont inférieurs ou égaux et supérieurs à 14 dents. C'est ce nombre que Roubaud a défini comme limite approximative entre l'armement des races multidentées et paucidentées, chez l'*A. maculipennis*, sans d'ailleurs avoir généralisé cette moyenne aux autres espèces.

ESPÈCES	INFÉRIEURS à 14 dents		ÉGAUX OU SUPÉRIEURS à 14 dents	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
<i>A. minimus</i> . . . . .	488	98,8	6	1,2
<i>A. jeyporiensis</i> . . . . .	484	96,6	17	3,4
Par comparaison :				
<i>A. sinensis</i> . . . . .	115	8	977	92
<i>A. vagus</i> . . . . .	370	36	658	64

A cet égard, le groupe des anophèles que nous étudions aujourd'hui se différencie nettement de celui des espèces étudiées précédemment et chez lesquelles la presque totalité des individus étaient munis de maxillaires possédant 14 dents et plus.

*Anopheles minimus* et *Anopheles jeyporiensis* sont donc, au Tonkin, des espèces paucidentées dont l'armement maxillaire doit déceler l'anthropophilie.

Affinités trophiques de « *A. minimus* » et « *A. jeyporiensis* ».

La détermination du sang ingéré, par la méthode des précipitines, dont nous allons maintenant donner les résultats s'est

adressée, nous l'avons dit, au même matériel utilisé pour la détermination de l'indice maxillaire : 495 *A. minimus* et 501 *A. jeyporiensis* qui ont fourni, le premier 543 « tests » (13) et le second, 543 « tests » répartis de la façon suivante :

	<i>A. minimus</i>	<i>A. jeyporiensis</i>
Réactions simples. . . . .	449	463
Réactions mixtes (2 animaux) . . . . .	41	34
Réactions mixtes (3 animaux) . . . . .	4	1

Ces valeurs nous permettent donc de confirmer pour l'Indochine septentrionale les résultats acquis par Mesnard et Tounanoff pour le Sud : *A. minimus* et *A. jeyporiensis* *insectes paucidentés, sont nettement anthropophiles*.

TABLEAU I.

ESPÈCES	<i>A. minimus</i>		<i>A. jeyporiensis</i>	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Homme. . . . .	325	59,6	278	51,2
Bœuf. . . . .	50	9,2	119	21,9
Buffle. . . . .	39	7,2	74	13,6
Cheval. . . . .	13	2,4	9	1,7
Mouton, Chèvre. . . . .	13	2,4	9	1,6
Porc. . . . .	3	0,6	1	0,2
Chien. . . . .	10	1,9	4	0,7
Poule. . . . .	4	0,7	3	0,6
Indéterminé. . . . .	88	16,2	46	8,5

Ce premier point acquis, quel est l'ordre de préférence suivant lequel les différents individus (homme ou animaux divers) attirent ces anophèles ? Cet ordre de choix varie-t-il suivant que les anophèles ont été capturés dans les habitations ou dans les étables ?

Il ressort de ces tableaux que la répartition des divers animaux exploités par les espèces anthropophiles est un peu différente suivant que les anophèles sont capturés dans les habitations ou dans les étables. Mais, dans les deux cas, cependant, le rapport de ces espèces avec l'homme existe toujours. *A. si-*

(13) Voir *Anopheles vagus*, note bas de la page 59.

TABLEAU II. — Captures faites dans les habitations.

	<i>A. sinensis</i>		<i>A. minimus</i>		<i>A. jeyporiensis</i>	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Insectes gorgés de sang :						
D'homme. . . . .	41	9,6	319	66,1	271	70,4
De bœuf . . . . .	91	21,3	26	5,4	21	5,5
De buffle . . . . .	132	30,8	23	4,8	38	9,9
De cheval. . . . .	17	3,9	13	2,7	8	2,1
De mouton, chèvre . . .	31	7,3	12	2,5	5	1,3
De porc. . . . .	60	14,0	2	0,4	1	0,3
De chien . . . . .	10	2,3	10	2,1	2	0,6
De poule . . . . .	7	1,6	4	0,8	3	0,8
Indéterminé . . . . .	39	9,1	74	15,3	36	9,4

*nensis*, au contraire, a semblé montrer une indifférence plus grande dans le choix de l'hôte, pourvu qu'il ait à sa disposition des animaux à sang chaud ; c'est ainsi que nous avons vu des individus de cette espèce se réfugier en grand nombre dans les habitations après s'être gorgés dans les étables, confirmant pleinement la remarque de Toumanoff « qu'il serait imprudent de conclure d'emblée que les femelles gorgées de sang dans

TABLEAU III. — Captures faites dans les étables.

	<i>A. sinensis</i>		<i>A. minimus</i>		<i>A. jeyporiensis</i>	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Insectes gorgés de sang :						
D'homme. . . . .	51	6,0	6	9,7	7	4,4
De bœuf . . . . .	109	12,7	24	38,7	98	62,0
De buffle . . . . .	403	47,1	16	25,8	36	22,8
De cheval. . . . .	46	5,4	»	»	1	0,6
De mouton, chèvre . . .	156	18,2	1	0,2	4	2,5
De porc. . . . .	32	3,7	1	0,2	»	0
De chien . . . . .	15	1,8	»	»	2	1,3
Indéterminé . . . . .	43	5,0	14	22,6	10	6,3



les habitations sont des exploitants de l'homme ». Il serait non seulement imprudent mais certainement faux de tirer une telle conclusion du lieu des captures ; seul, l'examen par la méthode des précipitines du sang ingéré peut donner un tableau exact des affinités trophiques des diverses espèces anophéliennes.

Les femelles de *Myzomyia* gorgées et capturées dans les habitations donnent une proportion de 60 à 70 p. 100 de réactions positives au sérum anti-homme, tandis que celles capturées dans les étables fournissent à peine 10 p. 100. pour *A. minimus* et 5 p. 100 pour *A. jeyporiensis*.

Nous pouvons donc dire que ces deux espèces paraissent anthropophiles au même degré l'une que l'autre (tableau II), mais si le contact avec l'homme est rompu *A. jeyporiensis* montre une faculté de déviation plus grande que *A. minimus* sur le bétail (voir tableau III). Toumanoff (14) pense pouvoir admettre que « c'est surtout aux buffles et non aux bœufs que « s'attaquent en remplacement de l'homme les espèces pathologiques paucidentées ». Au contraire, l'animal qui subit les attaques les plus fréquentes au Tonkin paraît être le bœuf (voir tableau III), et le même fait avait été constaté par Laurel (2) aux Philippines.

Ce point est très important pour déterminer le rôle relatif joué par les divers bovins dans la zooprophylaxie.

A Phu-Ho, par exemple, bien que la proportion des bœufs soit à peine le double de celle des buffles, nous trouvons trois fois plus de *A. minimus* et environ sept fois plus de *A. jeyporiensis* gorgés sur bœufs que sur buffles.

Pour d'autres localités, nous avons obtenu des résultats qui confirment ces observations ; même lorsque le nombre de buffles dépasse de beaucoup celui des bœufs la proportion de moustiques gorgés de sang de bœuf est encore relativement élevée.

Ces faits viennent donc confirmer les valeurs données dans le tableau III et paraissent indiquer que le bœuf est en effet plus recherché que le buffle par les *Myzomyia* au Tonkin

(14) TOUMANOFF. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1934, p. 932.

(15) LAUREL. *P. I. Health Service Month.*, 40, 1930.

### Facteurs de la déviation animale et prophylaxie.

Le caractère anthropophile de *A. minimus* et *A. jeyporiensis* étant nettement reconnu par l'armement maxillaire et les méthodes biologiques, il apparaît que toute femelle de ces espèces capturée dans les habitations et gorgée de sang autre que celui de l'homme, a été déviée de ses affinités trophiques normales, ou a vu accidentellement son contact rompu avec ce dernier.

Deux groupes de facteurs sont dès lors à préciser :

1° Ceux qui déterminent artificiellement cette rupture de contact.

2° Ceux qui, le contact rompu, détournent l'insecte de son hôte habituel en le dirigeant vers d'autres vertébrés. Leur étude est intéressante au premier chef, car ils appartiennent déjà à la prophylaxie du paludisme.

#### I. — FACTEURS QUI DÉTERMINENT LA RUPTURE DE CONTACT.

A. — MOUSTIQUAIRES. — Le moyen le plus simple est l'emploi des moustiquaires individuelles dont Marneffe (16) vient de faire une étude très complète. Leur efficacité est directement proportionnelle à leur état d'entretien. Chez l'indigène aisé (Haiduong, par exemple) où l'on trouve les moustiquaires de tulle blanc, bien entretenues, sans ouverture latérale, sans trous, la découverte de moustiques à l'intérieur est rare. Les anophèles se sont réfugiés sous les escaliers, sous les bas-flancs, dans les dépendances.

Chez l'indigène du peuple, par contre, bien que l'usage de la moustiquaire soit assez répandu, son état lamentable rend toutes protections illusoirs. Le contact entre l'homme et le moustique est rétabli grâce à la facilité avec laquelle l'anophèle repère les solutions de continuité du tulle et à l'indifférence à son égard de l'habitant qui s'entoure de la pseudo-sécurité d'un moyen de protection rendu plus dangereux par son mauvais entretien.

(16) MARNEFFE. *Bull. Soc. Méd. Chir. Indochine*, mai 1936.

B. — GRILLAGES MÉTALLIQUES. — Les prospections effectuées dans des maisons coloniales situées en pleine zone hyperendémique (Phu-Ho, Lahati, Boneng) nous ont montré l'efficacité de ces installations lorsqu'elles sont bien entretenues. Dans un centre, l'occasion nous a été offerte de trouver des *A. minimus* dans une chambre à coucher pourtant grillagée. Une inspection des grillages a révélé le descellement du cadre d'une des fenêtres. L'ouverture qui en résultait offrait juste le passage aux nombreux *Myzomyia* qui rendaient ce poste insalubre.

C. — La fumée du foyer domestique qui envahit toute case non compartimentée assure également une rupture efficace de contact entre l'homme et le moustique, mais ce moyen est trop temporaire et trop inconfortable pour assurer une protection durable des habitants des paillotes.

D. — L'atmosphère toxique créée artificiellement par l'aspersion d'insecticides enveloppe les individus à protéger d'une zone temporairement infranchissable aux moustiques. Elle a les mêmes inconvénients que le moyen précédent.

## II. — FACTEURS DE DÉVIATION TROPHIQUE.

La rupture de contact mécanique entre l'homme et l'insecte n'est pas suffisante pour assurer l'assainissement des régions où sévit la malaria.

Il est nécessaire d'assurer le maintien définitif de cette rupture de contact et de tenter la déviation trophique des anophèles. Dans ce but le premier effort consiste à éloigner les gîtes, le deuxième à offrir aux anophèles des hôtes plus facilement accessibles que les êtres humains.

La suppression ou le traitement des collections d'eau obligeront les moustiques à chercher des endroits de plus en plus éloignés et propices pour y déposer leurs pontes. Ces résultats seront obtenus suivant les principes établis par les malariologistes et que Morin a résumés dans ses « Entretiens sur le Paludisme et sa prévention en Indochine ».

Le deuxième effort : offrir à l'anophèle des « hôtes vicariants » de l'homme, aura pour directives les indications four-

nies par le laboratoire, à la suite de ses recherches sur les affinités trophiques des anophèles.

Nous nous trouvons dès lors en présence des questions suivantes :

a) Quelles sont, pour les deux espèces anophéliennes qui nous occupent actuellement, à défaut de l'homme, les espèces animales préférées ?

La proportion d'insectes gorgés sur l'homme est à peu près identique pour les deux espèces, mais les bovidés sont exploités dans plus de 30 p. 100 des cas pour *A. jeyporiensis* tandis que *A. minimus* n'a attaqué ces animaux que dans 16,4 p. 100 des cas, témoignant ainsi d'une déviation zoophile beaucoup plus incertaine.

En conséquence, au Tonkin la déviation sur les bovidés sera, semble-t-il, la plus efficace dans les stations où *A. jeyporiensis* est le vecteur majeur (Hagiang, Phu-Ho), tandis que dans les autres, où *A. minimus* est, lui, vecteur majeur (Vinh-Tuy, Yên-Biên) les résultats seront beaucoup moins probants.

A l'aide du tableau ci-dessous nous pouvons, pour *A. minimus* et *A. jeyporiensis*, grouper les diverses espèces animales suivant leur degré d'attraction vis-à-vis de ces deux anophèles.

*A. minimus.*

1. Homme.
2. Bœuf.
3. Buffle.
4. Cheval.
5. Chèvre, mouton.
6. Chien.
7. Poule.
8. Porc.

*A. jeyporiensis.*

1. Homme.
2. Bœuf.
3. Buffle.
4. Cheval.
5. Chien.
6. Chèvre, mouton.
7. Poule.
8. Porc.

Nous sommes toutefois obligés de laisser de côté dans cette liste le groupe des « Indéterminés » bien qu'il figure pour 15.3 p. 100 dans le cas de *A. minimus* et 9.4 p. 100 dans celui de *A. jeyporiensis*.

Bien que la réaction des précipitines nous ait, dans ces cas, donné un résultat négatif, nous ne pouvons tout de même affirmer que cela est dû uniquement à l'insuffisance numérique de nos antisérums. De nouvelles recherches sont nécessaires pour retrouver les espèces éventuelles, sauvages ou domesti-



ques, que nous devons grouper momentanément sous le terme de « Indéterminés ».

On voit, en résumé, que *A. minimus* s'attaque d'abord à l'homme, puis aux bovidés. Le cheval vient ensuite, bien que dans une faible proportion. Porc et mouton sont les moins attaqués.

Pour *A. jeyporiensis*, les bovidés se classent également après l'homme dans l'ordre des préférences ; puis seulement viennent les autres espèces animales, sans présenter beaucoup de différence à ce point de vue les unes par rapport aux autres.

Le porc, à l'inverse de ce que nous avons vu pour *A. sinensis*, ne paraît pas particulièrement recherché par les *Myzomyia*.

b) Quelle situation doivent occuper les étables dans les groupements agricoles ? Voyons les enseignements que nous apporte à ce point de vue l'étude des affinités trophiques des anophèles.

Dans les schémas ci-contre, nous avons essayé de nous rendre compte du rôle que la situation relative des gîtes larvaires, des étables et des habitations pouvait avoir sur le pourcentage des anophèles (*A. minimus* et *A. jeyporiensis*) capturés soit dans les habitations soit dans les étables, ainsi que sur le pourcentage de femelles gorgées de sang d'homme et capturées seulement dans les habitations.

Prenons chaque centre l'un après l'autre.

*Hagiang* (schéma I). — Agglomération citadine. Quelques écuries de chevaux ; bovidés rares, stabulés en dehors du centre urbain dans des étables dispersées et éloignées.

Nombreux anophèles dans les maisons et dans les écuries de chevaux ; forte proportion de *A. minimus* et *A. jeyporiensis* gorgés sur l'homme. Le schéma montre l'interposition des gîtes larvaires entre les habitations et les étables ou les écuries.

En résumé : Déviation animale nulle par absence d'élevage animal important ; situation des gîtes larvaires à proximité des habitations sans interposition d'étables, fait que nous pouvons exprimer par le symbole suivant : Etables rares et éloignées. — Gîtes. — Habitations.

*Yên-Biên* (schéma II). — Localité agricole séparée de Ha-

giang par la Rivière Claire ; du bétail bovin existe dans l'agglomération, mais les étables sont sommairement construites ; ce sont des enclos de bambous surmontés d'un toit de paille ; la capture des anophèles y est nulle. Dans les habitations, les deux seules espèces sont *A. minimus* et *A. jeyporiensis*. La première représente presque la totalité des captures (98 p. 100).

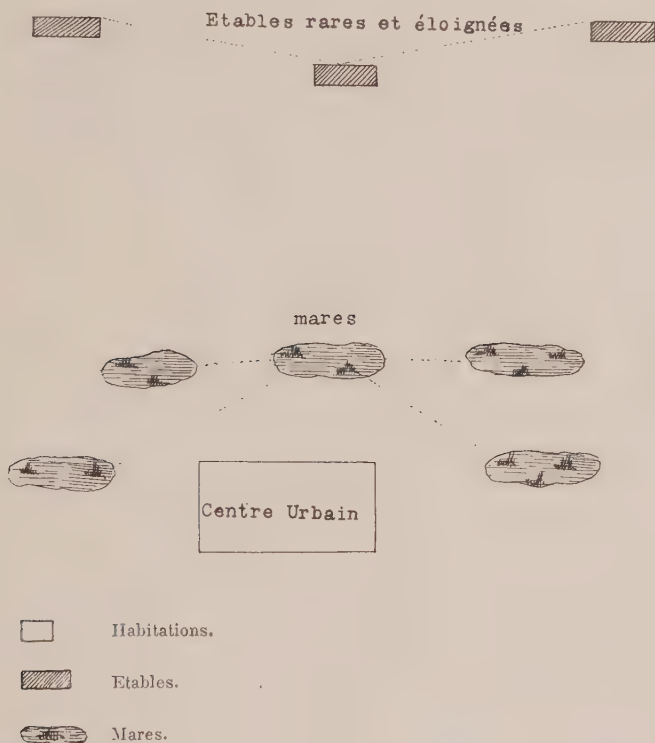


SCHÉMA I. — Centre de Ha-Giang.

La déviation animale commence à peine à jouer et seulement pour *A. jeyporiensis*, dont la proportion de femelles gorgées sur l'homme est beaucoup plus faible que pour *A. minimus* plus spécifiquement anthropophile.

La déviation joue très mal pour les raisons suivantes :

Pas de refuges d'anophèles dans les étables qui sont de simples enclos.

Les étables sont dispersées d'une façon quelconque.

Les gîtes larvaires sont à proximité des habitations.

Le symbole devient : Etables. — Habitations. — Gîtes.

*Cho-Ganh* (schéma III). — Concession agricole avec un nombreux cheptel ; les étables sont bien construites, parois de pierre montant jusqu'au toit, elles forment un groupe homogène. Sur le terrain les 3 groupements : Etables, Gîtes, Habitations occupent les 3 sommets d'un triangle équilatéral.

Aucun obstacle ne gêne les anophèles dans leur migration des gîtes larvaires vers leurs hôtes préférés. *A. minimus* et *A. jeyporiensis*, existent aussi bien dans les habitations (17) que dans les étables. Mais nous ne retrouvons plus de *A. jeyporien-*

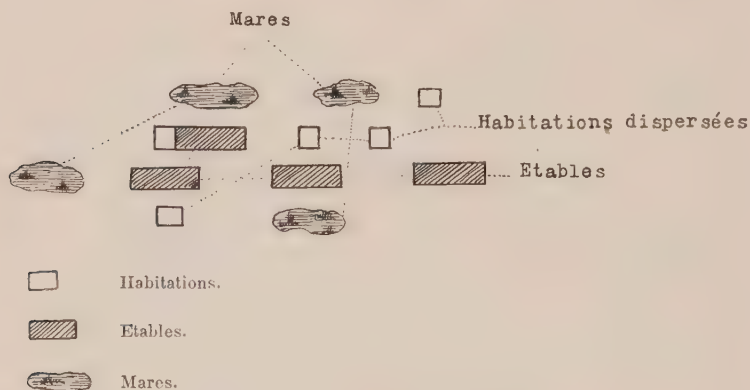


SCHÉMA II. — Centre de Yen-Bien.

sis gorgés sur l'homme. La déviation est donc complète pour cette espèce. *A. minimus* donne encore ici, la preuve de son anthropophilie élective :

Le symbole prend la forme :

Etables  
Habitations } Gîtes.

(17) Il est maintenant établi, principalement depuis les constatations de Walsch et de Toumanoff, qu'il ne suffit pas de trouver des anophèles dans les maisons pour penser qu'ils ont cherché sur place leur nourriture sanguine. Beaucoup se sont gorgés ailleurs et viennent se réfugier ultérieurement dans les habitations.

*Phu-Ho* (schéma IV). — Ce dernier exemple est encore une concession agricole ; les étables sont bien construites, les maisons aussi, l'habitant possède de bonnes moustiquaires.

Là encore les deux *Myzomyia* sont trouvés aussi bien dans les maisons que dans les étables. Là aussi *A. jeyporiensis* n'a plus été reconnu gorgé de sang humain, tandis qu'*A. minimus*

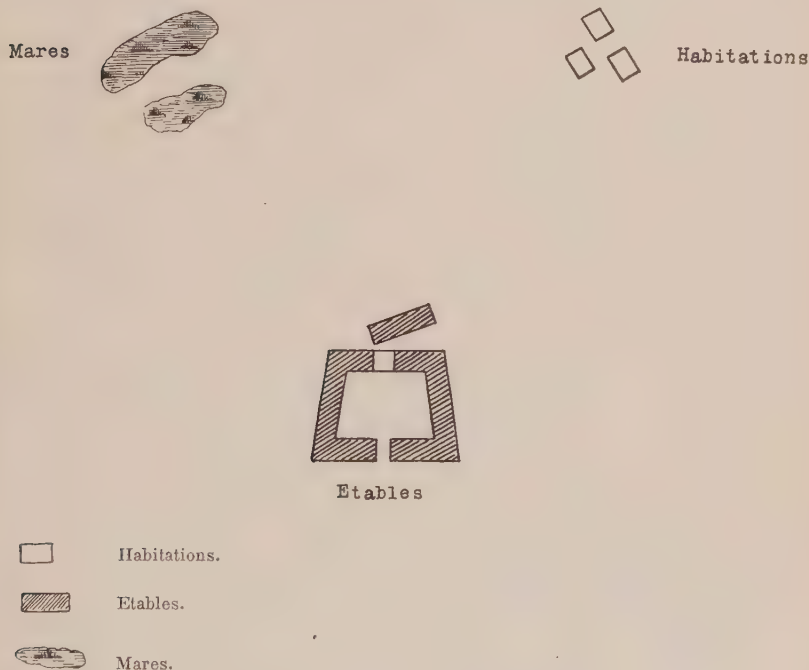


SCHÉMA III. — Centre de Cho-Ganh.

l'est encore, mais dans une proportion beaucoup plus faible qu'à Cho-Ganh.

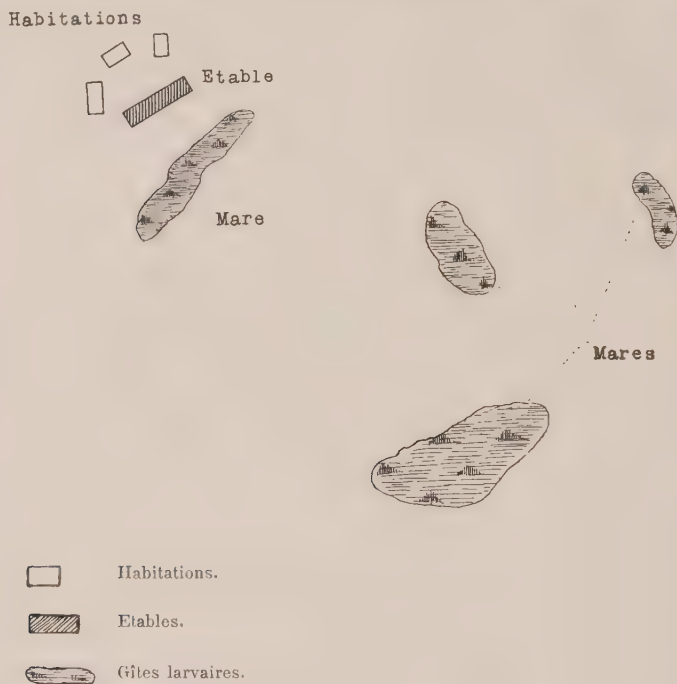
La disposition prend alors la forme idéale d'écran qui permet à la zooprophylaxie de donner le meilleur rendement, soit : Gîtes. — Etables. — Habitations.

Mais il ne faut pas oublier que nous n'étudions dans ce paragraphe qu'un seul facteur : la situation relative, les uns par rapport aux autres, des habitations, des étables et des gîtes larvaires.



La formule idéale devrait également tenir compte de divers autres facteurs encore : Densité anophélienne, densités relatives humaine et animale, climat local, mœurs des habitants, degré de stabulation, etc., en dehors des particularités biologiques propres des espèces ou races d'anophèles.

Pour résumer, nous dirons que la zooprophyllaxie, si elle peut d'emblée donner d'excellents résultats pour des espèces



SCHEMA IV. — Centre de Phu-Ho.

zoophiles telles que *A. sinensis* ou *A. vagus*, doit se contenter, pour les espèces anthropophiles *A. minimus* et *A. jeyporiensis*, de constituer un des éléments importants de la lutte anti-anophélienne; à elle seule elle ne saurait parvenir à des résultats complets, sans une modification à longue échéance du conditionnement général de la vie humaine, c'est-à-dire du conditionnement biologique normal des moustiques, ainsi que l'a exprimé à maintes reprises notre maître, le professeur E. Roubaud.

### Conclusions.

Cette troisième partie de nos recherches sur les affinités trophiques des Anophèles du Tonkin en relation avec leur indice maxillaire, concerne deux espèces connues en Indochine Nord comme vecteurs majeurs du Paludisme : *A. minimus* et *A. jeyporiensis*.

L'étude de l'indice maxillaire et du contenu stomacal par la méthode des précipitines a porté sur un total de 494 *A. minimus* et 501 *A. jeyporiensis*.

1° Les indices maxillaires moyens ont donné pour ces deux espèces les valeurs suivantes :

<i>Anophèles minimus</i> . . . . .	11,6 (98,8 p. 100, inférieur à 14).
<i>Anophèles jeyporiensis</i> . . . . .	12,0 (96,6 p. 100, inférieur à 14).

L'indice maxillaire moyen varie de 9,5 à 14,5 pour *A. minimus* et de 9,5 à 15 pour *A. jeyporiensis*.

L'armement maxillaire de *A. minimus* et *A. jeyporiensis* est donc celui d'espèces paucidentées.

2° Comme pour les espèces étudiées précédemment (*A. sinensis* et *A. vagus*), les valeurs de l'indice maxillaire moyen obtenues actuellement ne présentent que des différences négligeables avec celles obtenues en 1932 et 1934.

L'indice maxillaire déterminé dans 5 endroits différents varie également dans des limites très faibles ;

Pour <i>A. minimus</i> . . . . .	11,1-11,9
Pour <i>A. jeyporiensis</i> . . . . .	12,0-12,2

Enfin en prenant des nombres toujours plus grands d'*Anopheles minimus* (successivement : 25, 50, 75, 100, 125, 150 et 474) l'indice maxillaire n'a varié que de 11,3 à 11,6.

3° Les précipito-réactions ont décelé du sang humain dans une proportion de :

Pour <i>A. minimus</i> . . . . .	59,6 p. 100
Pour <i>A. jeyporiensis</i> . . . . .	51,2 p. 100

Ces résultats nous permettent d'affirmer qu'en Indochine Nord *A. minimus* et *A. jeyporiensis* sont des espèces anthropophiles.

4° *A. minimus* et *A. jeyporiensis* paraissent avoir des affinités anthropophiles aussi développées l'un que l'autre (66 et 70 p. 100). Mais dans des circonstances spéciales où peut s'exercer normalement le rôle protecteur des animaux, *A. jeyporiensis* paraît plus facilement dévié que *A. minimus* et cette déviation s'exerce surtout sur les bovidés (85 p. 100 environ sur buffles et bœufs pour le premier, contre 54 p. 100 environ pour le second).

Le bœuf semble être plus recherché que le buffle par les *Myzomyia* capturées dans les étables.

5° L'anthropophilie de ces deux *Myzomyia* étant reconnue, toute femelle de ces espèces capturée dans les habitations et trouvée gorgée de sang autre que celui de l'homme doit être considérée comme ayant, temporairement, du moins, rompu son contact avec l'homme. La rupture de contact entre le moustique infectant et l'homme peut artificiellement être déterminée par des mesures mécaniques permanentes ou temporaires (moustiquaires, grillages), ou des fumées insecticides.

Mais elle est surtout justiciable des mesures prophylactiques antilarvaires (les mesures antiadultes par insecticides ayant un caractère trop provisoire) dont l'application est du ressort du malariologiste.

6° La rupture du contact moustique-homme réalisée par des mesures artificielles qui ne sont jamais parfaites ni définitives ne suffit pas à l'assainissement d'une région; la déviation des affinités trophiques des insectes sur un hôte animal peut y concourir utilement : elle doit être facilitée, quand le bétail existe, par l'établissement, en bonnes conditions, d'étables ou d'écuries abritant les animaux les plus attractifs après l'homme.

Buffles et bœufs paraissent être les hôtes (animaux vertébrés) préférés par *A. minimus* et *A. jeyporiensis*.

La position relative des étables dans le groupement agricole joue un rôle important au Tonkin dans la déviation protectrice; c'est surtout quand les étables s'interposent entre les gîtes larvaires et les habitations, ainsi que le montre l'étude

approfondie de quelques situations particulières, que la déviation de ces deux anophèles se trouve le mieux réalisée.

7° La zoophylaxie dans la lutte contre les espèces électivement anthropophiles est une mesure qui ne peut donner intégralement ses fruits vraisemblablement qu'à longue échéance, lorsque tous les facteurs conditionnant la déviation biologique auront été stabilisés et rendus permanents.

#### IV. — *ANOPHELES ACONITUS* DÖN. 1902

A un degré encore plus élevé que pour les espèces anophéliennes précédemment étudiées : *Anopheles hyrcanus*, var. *sinensis* Wied. 1828 (18), *Anopheles vagus* Dön. 1902, *Anopheles minimus* Théob. 1901 et *Anopheles jeyporiensis* James 1902, l'étude des affinités trophiques de *Anopheles aconitus* en rapport avec son indice maxillaire confirme la complexité des phénomènes biologiques chez ces insectes et cette complexité rend particulièrement difficile l'interprétation des résultats obtenus.

Roubaud et Toumanoff (19) ont récemment abordé la question importante des espèces qui, bien que paucidentées, semblent s'avérer zoophiles. La présente étude vient ajouter sa contribution à ce chapitre de zoophilisme anophélien car *Anopheles aconitus* se comporte ainsi, semble-t-il, dans certaines localités du Tonkin.

Des recherches antérieures avaient déjà montré, pour l'Indochine Nord, que *Anopheles aconitus*, bien que vecteur certain de paludisme, et possédant un indice maxillaire très inférieur à 14 dents, semblait subir une déviation animale. Nous nous proposons de mieux préciser le comportement biologique de cette espèce au Tonkin en nous efforçant de mettre en évidence les facteurs qui le conditionnent. Suivant le plan général adopté dès le début de nos recherches, nous avons étudié pa-

(18) H. GASCHEN et J. RAYNAL, Recherches sur les affinités trophiques des Anophèles d'Indochine, 1<sup>re</sup> note, *A. hyrcanus*, var. *sinensis* (Wied). Ces *Annales*, **57**, 1936, p. 311.

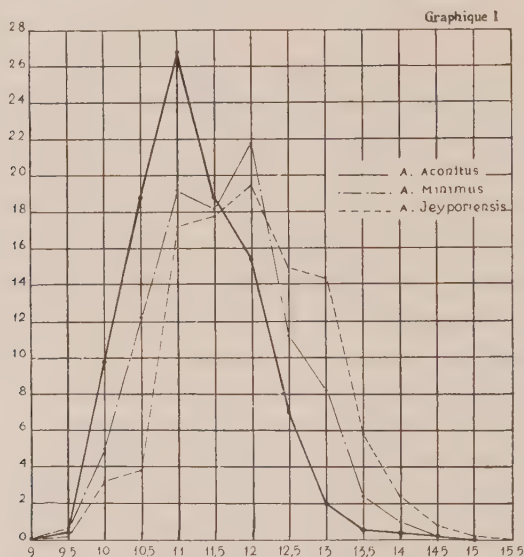
(19) E. ROUBAUD et C. TOUMANOFF. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1935, p. 835.



rallèlement l'indice maxillaire et la nature du contenu stomacal des insectes gorgés : 501 *Anophèles aconitus* ont été ainsi examinés.

### Indice maxillaire moyen de « *A. aconitus* ».

En n'utilisant donc que les maxilles des moustiques chez lesquels nous avons parallèlement déterminé l'origine du sang



ingéré, nous avons calculé l'indice maxillaire moyen de *A. aconitus* sur les 501 individus examinés et nous avons obtenu une valeur de 11,2.

*L'armement maxillaire de Anopheles aconitus correspond, dans nos recherches, à celui d'une espèce paucidentée.*

Cet indice de 11,2 est à rapprocher de celui des autres *Myzomyia* tels que *Anopheles minimus* [indice moyen : 11,6 (20)] et *Anopheles jeyporiensis* [indice moyen : 12,0 (20)]. Voir graphique I.

La répartition des maxilles, suivant que leur valeur est inférieure, égale ou supérieure à 14, confirme encore cette opinion. Nous pouvons inscrire comparativement pour les trois *Myzomyia* :

TABLEAU I.

ESPÈCES	MAXILLES de moins de 14 dents		MAXILLES ayant 14 dents et plus	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
<i>A. aconitus</i> . . . . .	498	99,40	3	0,60
<i>A. minimus</i> . . . . .	488	98,80	6	1,20
<i>A. jeyporiensis</i> . . . . .	484	96,60	17	3,40

Pas plus que nous ne l'avons observé pour les autres espèces, nous ne constatons pour *Anopheles aconitus* une variation sensible de la valeur de l'indice maxillaire suivant que cet indice a été déterminé à plusieurs années de distance pour les mêmes régions. Nous avons comme termes de comparaison les résultats déjà publiés par d'autres auteurs en 1932 (21) et en 1934 (22).

TABLEAU II.

AUTEURS	ANNÉE	RÉGION	EXAMINÉS	INDICE maxillaire
Roubaud, Toumanoff et Gaschen . .	1932	Indochine Nord.	443	11,6
Toumanoff . . . . .	1934	Indochine Sud.	76	11,3
Enquête actuelle . . . . .	1935	Indochine Nord.	501	11,2

De plus, les nombreux *aconitus* examinés, en dehors de cette enquête, pendant les trois dernières années au Laboratoire d'Entomologie de l'Institut Pasteur de Hanoï donnent aussi une valeur pratiquement égale : l'indice maxillaire

(21) ROUBAUD, TOUMANOFF et GASCHEN. Les données de l'indice maxillaire rapportées au rôle infectant des Anophèles de l'Indochine septentrionale. *Bull. Soc. Path. Exot.*, **2**, 1933, p. 282.

(22) TOUMANOFF, Etude de l'indice maxillaire de Roubaud. *Trans. Ninth Congr. Far East Assoc. Trop. Med.*, Nankin, **2**, 1934, p. 37.

moyen d'un millier d'individus (952 *A. aconitus* disséqués au laboratoire) en témoigne : il a été trouvé égal à 11,3.

En reprenant de même, dans les documents à notre disposition la plus grande partie des *Anopheles aconitus* disséqués jusqu'à ce jour, nous avons essayé de faire ressortir des différences possibles dans l'indice maxillaire, suivant les différentes localités prospectées.

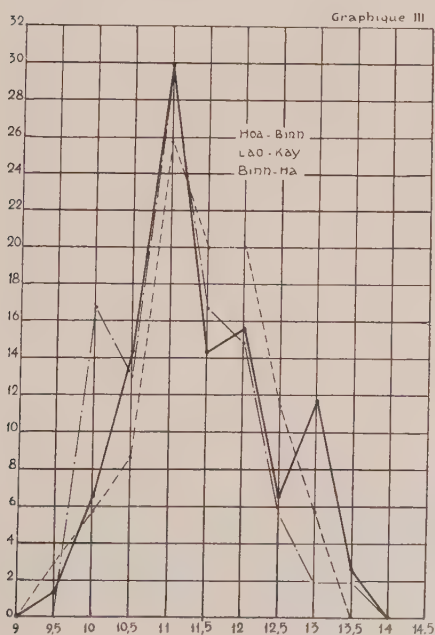
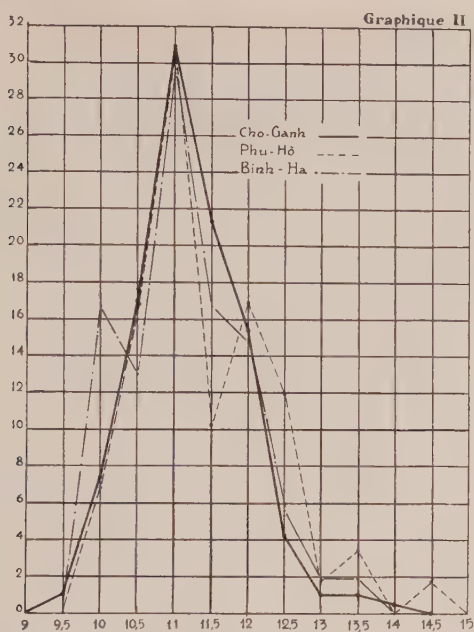
TABLEAU III.

SITES	LOCALITÉS	NOMBRE d'exams	INDICE maxillaire	CENTRES
0	Binh-Ha . . . . .	54	11,2	Village.
I	Hai-Duong . . . . .	40	11,1	Ville.
II	Voi . . . . .	60	11,0	Village.
	Phu-Ho . . . . .	59	11,4	Concession.
	Cho-Ganh . . . . .	188	11,2	Concession.
	Pha-lo . . . . .	55	11,3	Concession.
III	Bimson-Dongiao . . . . .	49	11,3	Concession.
	Yên-Bay . . . . .	44	10,9	Ville.
	Tuyên-Quang . . . . .	24	11,2	Ville.
	Lao-Kay . . . . .	35	11,5	Ville.
IV	Hagiang . . . . .	23	11,3	Ville.
	Hoa-Binh . . . . .	121	11,4	Ville.

On voit qu'en réalité, *Anopheles aconitus* conserve un indice maxillaire d'une valeur à peu près constante (variation de 10,9 à 11,5) quel que soit le genre d'agglomération (ville, village, concession) et aussi quel que soit le site envisagé (il variait de 0 à IV, c'est-à-dire : du bord de la mer jusqu'à la vallée de la Haute-Région).

Il ne semble donc pas que l'on puisse différencier par l'indice maxillaire moyen des variétés biologiques de l'*Anopheles aconitus* au Tonkin. Toutefois, en analysant dans le détail l'armement maxillaire d'insectes de diverses origines, nous sommes amenés à faire des réserves à ce sujet en raison des constatations suivantes :

1° A Phu-Ho et à Cho-Ganh (deux groupements agricoles) on trouve quelques individus mieux armés, dont l'indice maxillaire atteint 14 et même 14,5, ce qui, tout en laissant au graphique l'aspect habituel obtenu pour *A. aconitus*, provoque un étirement vers les fortes valeurs (Voir Graphique II).





1° Il est curieux de constater à Hoa-Binh (agglomération urbaine de la vallée de la Rivière Noire dans le site IV) la relative grande proportion des *A. aconitus* à 13 dents et plus; cette proportion s'élève ici à 14,3 p. 100, alors que dans 7 centres sur 8 examinés, elle ne dépassait pas 7,1 p. 100. (Voir Graphique III).

Ces deux remarques semblent indiquer que, sans parler de races locales ou de variétés, l'indice maxillaire dans certaines localités, subit des variations qui révèlent l'existence d'une instabilité morphologique dont la raison se dégagera peut-être des recherches par les précipito-réactions que nous allons exposer.

### Affinités trophiques de « *Anopheles aconitus* ».

Les recherches par la méthode des précipitines, effectuées simultanément avec la détermination de l'indice maxillaire chez les mêmes exemplaires (501 *Anopheles aconitus*) ont donné, par le fait des réactions mixtes un total de 605 « tests » ainsi répartis :

TABLEAU IV.

SÉRUMS ANTI	RÉACTIONS positives	POURCENTAGE
Bœuf . . . . .	438	72,4
Buffle . . . . .	83	13,7
Mouton, chèvre . . . . .	39	6,5
Homme . . . . .	14	2,3
Porc . . . . .	5	0,8
Poule . . . . .	2	0,3
Cheval . . . . .	2	0,3
Chien . . . . .	1	0,2
Réactions négatives en présence des sérums utilisés. . . . .	21	3,5

Etant données les valeurs précédemment établies de l'indice maxillaire de *Anopheles aconitus*, ces résultats semblent au premier abord paradoxaux : cet anophèle, paucidenté, serait donc par la nature de son contenu stomacal, à classer parmi les espèces nettement zoophiles.

Nous nous devons de signaler ici une cause d'erreur qui pourrait avoir en partie faussé nos résultats statistiques : 422 individus sur les 504 de notre statistique (soit 516 « tests » sur 605) proviennent de la même localité : Cho-Ganh. Les résultats globaux que nous donnons plus haut, peuvent donc être influencés dans une large mesure par les conditions locales de Cho-Ganh qui est précisément un domaine agricole dont la population humaine ne représente qu'une faible partie de la population vivante à sang chaud présente sur cette concession.

Il se peut, dès lors, qu'il y ait des différences dans la répartition des affinités trophiques de *Anopheles aconitus* vis-à-vis des divers êtres vivants, suivant qu'il s'agit d'agglomérations humaines ou de groupements agricoles. Pour résoudre cette question nous avons été amenés à détailler les résultats de nos précipito-réactions.

Examinons le tableau ci-dessous :

TABLEAU V.

<i>Anopheles aconitus</i> gorgés sur	A		B		C	
	ENSEMBLE		ENSEMBLE sans Cho-Ganh (agglomérations humaines avec peu de bétail)		CHO-GANH moyenne des 8 groupes du tableau VI	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Homme . . . . .	44	2,3	10	11,2	4	0,5
Buffle . . . . .	83	13,7	27	30,3	56	9,4
Bœuf . . . . .	438	72,4	40	44,9	398	77,8
Chien . . . . .	1	0,2	1	1,1		
Porc. . . . .	5	0,8	2	2,2	3	0,6
Chèvre, mouton . .	39	6,5			39	7,9
Poule . . . . .	2	0,3	1	1,1	1	0,2
Cheval. . . . .	2	0,3			2	0,5
Réactions négatives.	21	3,5	8	8,9	13	2,6
Totaux. . . . .	605		89		516	

Colonne A : répartition du total des réactions entre les divers animaux.

Colonne B : répartition des réactions sur anophèles capturés dans diverses localités où la proportion d'animaux est faible.

Colonne C : répartition des réactions de la concession de Cho-Ganh où la proportion d'animaux est forte.

TABLEAU VI.

	1 <sup>er</sup> GROUPE		2 <sup>e</sup> GROUPE		3 <sup>e</sup> GROUPE		4 <sup>e</sup> GROUPE		5 <sup>e</sup> GROUPE		6 <sup>e</sup> GROUPE		7 <sup>e</sup> GROUPE		8 <sup>e</sup> GROUPE		TOTAL
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	
Homme . . . . .															4	4,3	4
Bœuf. . . . .	18	30,0	42	67,7	60	95,2	56	88,9	44	88,0	59	93,7	59	93,7	60	65,2	398
Buffle. . . . .	21	35,0	8	12,9			2	3,2			1	1,6	1	1,6	23	25,0	56
Chèvre, mouton. . . . .	15	25,0	10	16,1	2	3,2	2	3,2	4	8,0			3	4,8	3	3,3	39
Cheval . . . . .	1	1,7							1	2,0							2
Poule. . . . .					1	1,6											1
Porc . . . . .							1	1,6			2	3,2					3
Zéro . . . . .	5	8,3	2	3,2			2	3,2	1	2,0	1	1,6			2	2,2	13
Totaux . . .	60		62		63		63		50		63		63		92		516

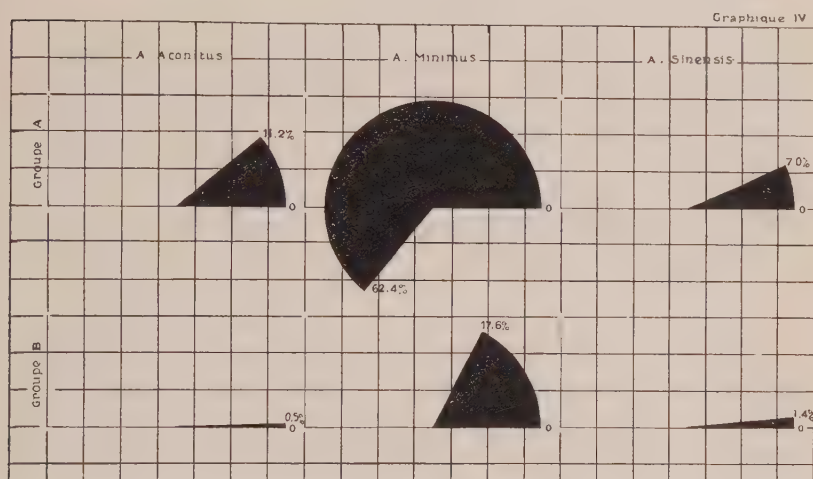
On voit tout de suite qu'il s'est produit une dénivellation très nette dans le pourcentage des *aconitus* anthropophiles, suivant que l'on considère les résultats de Cho-Ganh ou ceux des agglomérations humaines; la rupture d'équilibre s'est produite en faveur des réactions de cette dernière provenance : celles-ci caractérisent le sang humain dans une proportion relative 22 fois plus forte que lorsqu'il s'agit de Cho-Ganh.

Toutefois, la comparaison n'est pas rigoureusement exacte, car les totaux d'examen dans les deux groupements sont dans la proportion de 1 à 6 (89 en B, pour 516 en C). Pour rendre cette comparaison possible, nous avons établi les résultats de Cho-Ganh par groupes de 60 examens environ, dans l'ordre des captures, en déterminant pour chaque groupe la répartition des affinités. (Tableau VI).

Ces groupes, artificiellement établis, de 50 à 92 « tests », sont maintenant comparables aux résultats de la colonne B du tableau V. Dans un seul de ces groupes la présence de sang humain se vérifie dans 4 contenus stomacaux sur 77 examinés, soit une proportion de 5 p. 100 environ; encore dans ces 4 cas y a-t-il eu toujours réaction mixte homme-bœuf. Dans les 7 autres groupes de Cho-Ganh, tous les exemplaires examinés s'étaient nourris sur l'animal.

Au contraire, dans le total des autres provenances (colonne B du tableau V) concernant des localités où le bétail ne dépasse pas la densité habituelle de la petite propriété indigène et où nous avons capturé un ensemble de 89 *A. aconitus*, 10 d'entre eux étaient gorgés de sang humain; chez un seul l'estomac contenait un mélange de sang humain et de sang de buffle.

Malgré les chiffres d'ensemble donnés dans le tableau IV, l'anthropophilie de *Anopheles aconitus* serait, tout bien con-



sidéré, certainement accusée dans la réalité. Il n'y a donc pas une discordance absolue entre les caractères biologiques de cette espèce et la place qu'elle occupe en systématique dans le groupe des *Myzomyia*. On peut dire cependant que ses affinités anthropophiles sont moins marquées et qu'elles paraissent beaucoup plus instables que celles des autres espèces du même groupe.

Essayons, pour terminer, d'établir une comparaison avec le comportement d'autres espèces anophéliennes suivant qu'elles proviennent de l'ensemble des agglomérations humaines où nous avons poursuivi nos recherches (groupe A) ou de la concession agricole de Cho-Ganh (groupe B). Pour cela nous avons établi les différents éléments du graphique dans lesquels on



trouvera transcrit de manière plus apparente la variation des affinités sur l'homme ou sur le bœuf suivant qu'il s'agit d'*Anopheles minimus* (espèce anthropophile), d'*Anopheles sinensis* (espèce à tendance plutôt zoophile) et d'*Anopheles aconitus* (espèce dont nous voulons préciser le caractère).

La proportion de *A. minimus* gorgés sur l'homme qui est de 62,4 p. 100 dans le groupe A, passe à 17,6 p. 100 dans le groupe B; cette diminution peut être exprimée par la valeur du rapport

$$\frac{62,4}{17,6} = 3,6$$

dans le groupe B; *A. minimus* est, à Cho-Ganh, partiellement dévié sur les animaux, mais il reste un certain nombre d'individus chez lesquels le caractère anthropophile s'est maintenu.

Dans les mêmes conditions, le pourcentage de *A. sinensis* gorgés sur l'homme diminue de 7 à 1,4 p. 100; le rapport défini ci-dessus devient

$$\frac{7}{1,4} = 5.$$

La déviation vers les animaux à Cho-Ganh déjà sensible pour *A. minimus* est encore plus apparente pour *A. sinensis*. Les individus qui continuent, malgré la zoophilie de l'espèce, à exploiter l'homme, sont devenus très rares.

*Anopheles aconitus*, lui, dans les conditions spéciales de Cho-Ganh déjà exposées (grande disproportion entre hommes et animaux) a perdu l'anthropophilie manifestée par ailleurs et devient franchement zoophile : le pourcentage passe de 11,2 p. 100 à 0,5 p. 100 et le rapport devient égal à 22,4, très supérieur à celui obtenu pour *A. minimus* et pour *A. sinensis*.

Il paraît logique de penser, d'après l'ensemble des résultats que nous avons acquis sur le comportement d'*Anopheles aconitus* au Tonkin que cet anophèle, dans certaines agglomérations rurales, peut facilement dévier son tropisme sur les animaux, tandis qu'il continue à exploiter en partie l'homme dans les centres urbains.

L'anthropophilie qui est un caractère général des *Myzomyia* et qui explique le rôle de *A. aconitus* comme agent vecteur

secondaire du paludisme en Indochine Nord, peut ainsi fléchir de façon presque absolue dans les exploitations agricoles où le cheptel bovin stabulé est abondant.

Nous avons vu plus haut que, dans les mêmes conditions, on peut constater chez *A. aconitus* une instabilité particulière de l'indice maxillaire, avec une amorce vers une élévation progressive du nombre des dents. Cela nous indique certainement que l'espèce tend à s'adapter morphologiquement à de nouvelles conditions biologiques. Mais ce léger degré d'instabilité de l'armement maxillaire est bien peu de chose, chez les *A. aconitus* que nous avons étudiés, comparé à l'instabilité de leurs affinités trophiques, qui, directement soumises aux conditions du milieu, varieront d'orientation suivant l'importance relative de l'élément humain ou de l'élément animal stabulé; il semble, dans certain cas, que l'étape d'*A. aconitus* vers la zoophilie ait été franchie, sans que pour cela se soit produite une franche adaptation de la morphologie maxillaire, dont on peut cependant, mais très rarement encore, trouver çà et là une ébauche.

Ce *Myzomyia*, en somme, présente actuellement en Indochine Nord l'attitude d'une espèce qui, placée dans de bonnes conditions, évolue vers la zoophilie, mais chez laquelle les caractères biologiques accusent une « évolution » beaucoup plus rapide que les caractères morphologiques de l'armement maxillaire. Les deux évolutions ne sont pas parallèles : les modifications de l'armement maxillaire, dans le sens d'une augmentation du nombre des dents et de la constitution d'un type multidenté ne surviendront sans doute que progressivement et longtemps après la nouvelle orientation trophique que contracte actuellement cette espèce. L'exemple de *Anopheles aconitus* est à rapprocher, à ce point de vue de celui du *Culex* autogène décrit par Roubaud (24), chez lequel l'évolution biologique n'est pas accompagnée d'évolution morphologique appréciable.

(24) ROUBAUD, Essai synthétique sur la vie du Moustique commun (*Culex pipiens*). *Ann. des Sc. Nat.*, série Botanique et Zoologie, 10<sup>e</sup> sér., 16, 1933, p. 16.

### Conclusions.

Nous donnons dans cette note les résultats de l'étude simultanée de l'indice maxillaire et de la méthode des précipitines appliquée au contenu stomacal de 501 *Anopheles aconitus* capturés au Tonkin.

1° D'après ces recherches l'indice maxillaire moyen de cette espèce égale 11,2, chiffre sensiblement identique à ceux déjà donnés pour *A. aconitus* en Indochine.

Le nombre des dents de l'armement maxillaire varie de 9 à 13; comme nous l'avons constaté pour *A. minimus* et pour *A. jeyporiensis*, plus de 90 p. 100 des *A. aconitus* ont moins de 14 dents. L'armement maxillaire de *A. aconitus* appartient donc au même type que celui des autres *Myzomyia*. Il est celui d'une espèce paucidentée.

2° A l'aide de documents pour la plupart antérieurs à ces recherches, nous avons établi l'indice maxillaire d'*A. aconitus* dans un certain nombre de localités du Tonkin : les valeurs obtenues sont comprises entre 10,9 et 11,5. Il ne semble pas que l'on puisse différencier, par l'indice maxillaire, l'existence de variétés biologiques chez *Anopheles aconitus* en Indochine Nord. Cependant, l'étude de l'indice maxillaire dans quelques groupements agricoles semble indiquer pour cet insecte une certaine instabilité de cet indice qui tend à s'élever chez quelques individus.

3° La méthode des précipitines nous a donné les résultats globaux suivants :

Sang humain . . . .	14 cas, soit 2,3 p. 100
Sang animal . . . .	370 cas, soit 94,2 p. 100
Indéterminé . . . .	21 cas, soit 3,5 p. 100 (réactions négatives).

Ces résultats nous amèneraient à considérer *A. aconitus*, malgré la pauvreté de son armement maxillaire, comme une espèce zoophile. Cependant la valeur intrinsèque de nos résultats globaux est infirmée par le fait que 422 sur 501 des insectes étudiés proviennent de la concession agricole de Choganh où le bétail en stabulation est très important et où toutes

les espèces anophéliennes, y compris les *Myzomyia*, sont plus ou moins déviés sur le bétail.

4° Si l'on étudie en effet, séparément et comparativement, les affinités trophiques des *Anopheles aconitus* de Cho-Ganh et celles des *Anopheles aconitus* capturés dans des localités où l'élément humain domine, on voit que le pourcentage des individus anthropophiles de ce dernier groupe est 22 fois plus élevé, tandis que dans le premier cas la déviation de *Anopheles aconitus* sur l'animal est presque complète.

Tout se passe comme si les affinités trophiques de *Anopheles aconitus* au Tonkin, étaient devenues instables et sujettes à des ruptures d'équilibre conditionnées par la prédominance à portée de sa piqure, de l'élément humain ou de l'élément animal.

Ce *Myzomyia* a conservé en grande partie son caractère anthropophile dans certains centres urbains et ruraux et c'est ce qui explique son rôle comme agent vecteur non négligeable du paludisme dans certaines localités du Tonkin. Mais dans certaines circonstances il peut devenir nettement zoophile et la déviation animale s'observe au plus haut degré dans le cas d'une exploitation agricole possédant un important cheptel bovin stabulé. L'acquisition de ce deuxième caractère permet de comprendre cette instabilité de l'indice maxillaire que nous avons vu se manifester à un très faible degré dans des conditions analogues.

5° A ce point de vue, l'exemple de *Anopheles aconitus* paraît nous confirmer que les caractères biologiques d'une espèce s'adaptent rapidement aux conditions locales, mais que les caractères morphologiques, eux, ne se modifient que plus lentement au cours de multiples générations, sous l'influence de la sélection naturelle.



# ÉTUDE MICROBIOLOGIQUE, EXPÉRIMENTALE ET IMMUNOLOGIQUE DE QUELQUES STREPTOTHRICÉES

par R. K. GOYAL.

(Institut Pasteur.

Laboratoire de recherches sur la tuberculose.)

Cette étude morphologique, expérimentale et immunologique des Streptothricées a porté sur les espèces suivantes :

1° *Nocardia eppingeri* de la collection de l'Institut Pasteur.

2° *Actinomyces asteroides eppingeri*, n° 3238, isolé par le Professeur W.-J. Tulloch, Dundee (Ecosse) et mis à notre disposition par « National Collection of Type cultures, London ».

3° *Actinomyces asteroides eppingeri* n° 4519, isolé par le Professeur Pollaci, Pavie (Italie), et mis à notre disposition par « National Collection of Type Cultures, London ».

4° *Nocardia bovis*, mis à notre disposition par M. Magrou.

5° *Streptothrix* isolé à l'Institut Pasteur par M<sup>me</sup> A. Gajinski [1].

6° *Streptothrix*, isolé du beurre en Bulgarie par Z. Thomoff [2].

7° *Nocardia madurae*, mis à notre disposition par M. Magrou.

8° *Streptothrix* isolé à l'Institut Pasteur en 1936 par R. Laporte d'un cobaye inoculé avec une émulsion de ganglion de provenance humaine.

9° *Streptothrix* A 21-22, isolé en 1936 par nous de la trachée d'un lapin.

10° *Streptothrix* G 12, isolé en 1936 par nous du mucus trachéal d'un cobaye.

11° *Streptothrix* G<sub>7</sub>S, isolé en 1936 par nous du mucus trachéal d'un autre cobaye.

D'après les caractères de leurs cultures, ces souches se répartissent en trois groupes :

GROUPÉ I. — Les souches G 12, G<sub>7</sub>S, 4519, *bovis* et *madurae* ont montré un développement compact, luisant en couche, adhérent parfois au substratum. Ces 5 souches dégagent l'odeur de moisissure après une période plus ou moins longue. L'apparition précoce d'hyphes aériennes a été observée chez les souches G 12, G<sub>7</sub>S et 4519. Les souches *bovis* et *madurae* ont poussé en profondeur et très rarement en surface. La gélatine est liquéfiée par les souches G 12, G<sub>7</sub>S, 4519 et *madurae*, mais non par la souche *bovis*. G 12, G<sub>7</sub>S et 4519 ont liquéfié le sérum coagulé ; G 12 et G<sub>7</sub>S ont liquéfié aussi le milieu de Lœwenstein. Les souches G 12, G<sub>7</sub>S et 4519 produisent un pigment soluble, marron foncé, sur la pomme de terre glycérinée. Pour les souches *bovis* et *madurae*, le liquide reste clair. Aucune de ces souches ne fermente le glucose, le saccharose, le lévulose et la mannite. Les souches G 12, G<sub>7</sub>S, *bovis* et *madurae* ne sont pas acido-résistantes. La souche 4519 était d'abord faiblement acido-résistante, mais l'acido-résistance a disparu après plusieurs repiquages.

GROUPÉ II. — Les souches *eppingeri*, 3258, A 21-22, Thomoff et Laporte ont donné des cultures friables, sans odeur, en général non adhérentes, sèches et plissées et des colonies isolées, parfois luisantes. Toutes ces souches ont une couleur plus ou moins rougeâtre. Le pigment est en général insoluble dans le milieu liquide, la souche de Laporte a donné un pigment brun rougeâtre en bouillon glycériné et jaune brunâtre en milieu de Sauton après quatorze semaines. Les hyphes aériennes sont à peine visibles ; elles dominent dans le groupe I, chez les souches G<sub>7</sub>S, G 12 et 4519. En milieu liquide, toutes ces souches poussent en surface et en profondeur sans troubler le liquide. Les souches *eppingeri*, A 21-22 et Thomoff ne liquéfient pas la gélatine ni le sérum coagulé ; la souche 3258 liquéfie seulement la gélatine. Le glucose, le saccharose, le lévulose et la mannite ne sont pas fermentés. Aucune de ces souches n'est nettement acido-résistante ; quelques bâtonnets et cocci seulement prennent parfois le Ziehl. Cultivés sur le milieu de Söhnngen à base de paraffine, des filaments restent colorés par le Ziehl, mais après dégraissage au xylol, ils perdent en général l'acido-résistance, quel-

ques formes courtes seulement sont vraiment acido-résistantes.

GRUPE III. — La souche *gaiginskii* donne une culture crémeuse, luisante, odorante et plus facilement émulsionnable que les autres. Elle pousse en bouillon glyciné en troublant le liquide et ne donne ni voile en surface ni hyphes aériennes. Le milieu de Lœwenstein est liquéfié, mais non la gélatine et le sérum coagulé. Cette souche pousse bien sur le milieu de Lœwenstein, mais non sur la gélatine et le sérum coagulé. Au moment de l'isolement, elle était acido-résistante, mais l'acido-résistance a disparu à la longue.

Nous avons isolé deux souches d'aspect crémeux proches du *Streptothrix gaiginskii*, l'une de l'urine d'un cobaye, l'autre de la bile d'un autre cobaye. Ces souches ne peuvent être classées dans aucun des 3 groupes décrits par Orskov [3].

Les souches A 21-22, G 12, et G<sub>7</sub>S isolées par nous et la souche de Laporte sont désignées par des noms provisoires, car nous ne savons pas si elles ont été déjà isolées ailleurs.

#### ACTION DE LA CHALEUR SUR LES STREPTOTHRICÉES.

Orskov [3] et Erikson [4] ont décrit la résistance variable des arthrospores dans les divers groupes de Streptothricées, mais ils n'ont donné aucun détail sur ce point. C'est pourquoi nous avons complété leur étude en utilisant les souches dont nous disposons.

Des émulsions épaisses de cultures en eau physiologique ont été chauffées au bain-marie à 60° et 72° pendant trente minutes et soixante minutes, puis ensemencées sur gélose ordinaire. Une partie des émulsions a été ensemencée comme témoin.

Les expériences ont été répétées deux ou trois fois selon la même technique.

Les souches 3258, *eppingeri*, Thomoff et *maduræ* ont été tuées par chauffage pendant une heure à 60°, la souche 3258 n'a pas résisté trente minutes à la même température. Les souches A 21-22, 4519 et G 12 ont donné des résultats irréguliers ; quelques éléments parfois restant vivants après une

heuré à 60°. Les souches *gaiginskii* et G<sub>7</sub>S ont résisté à 60° pendant une heure, Laporte et *bovis* à 72° pendant une heure.

Nous n'avons pu séparer les spores des filaments par ce

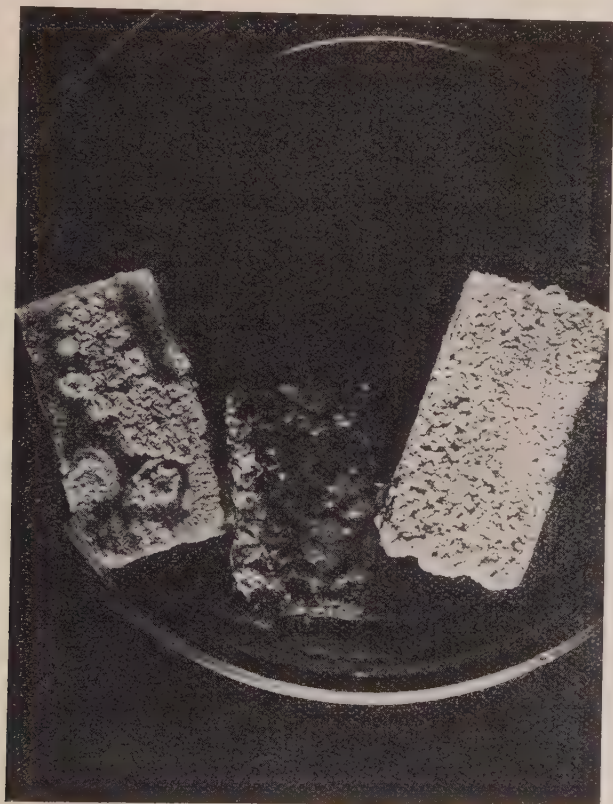


FIG. 4. — A 21-22, G 12 Laporte.

moyen. Les spores n'ont donc pas une résistance à la chaleur plus élevée que celle des filaments.

#### ÉTUDE DE LA TOXICITÉ COMPARÉE DE L'ACIDE SULFURIQUE ET DE L'ACIDE ACÉTIQUE POUR LES STREPTOTHRICÉES.

Pour l'isolement des Streptothricées à partir de produits souillés par des germes banaux, Gaiginski [1], A. et R.



Sartory, J. Meyer et M. Meyer [5] entre autres ont mélangé les produits étudiés en parties égales avec de l'acide sulfurique de 8 à 15 p. 100, mais cette concentration d'acide peut être nocive pour certaines souches et empêcher totalement le développement. Saenz, Sadettin et Costil [6] ont montré que les acides sulfurique et acétique à des concentrations de 5 à

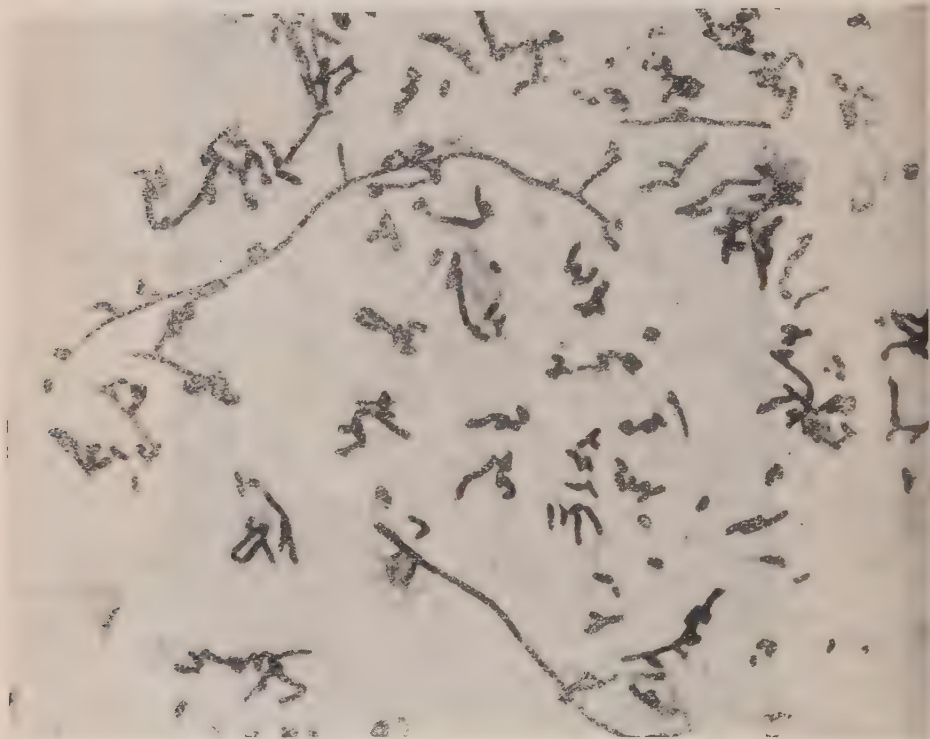


FIG. 2. — Gaiginskii-1800.

20 pour 100, exercent une action empêchante totale sur le développement des Streptothricées, mais ces expérimentateurs ont laissé les acides agir pendant au moins une demi-heure. Nous avons repris cette étude en utilisant une autre technique.

Des suspensions contenant 1 milligramme de germes par centimètre cube d'eau physiologique ont été mélangées en parties égales avec des concentrations différentes d'acide sulfurique et d'acide acétique, 1 ou

II gouttes de teinture de tournesol ont été ajoutées ensuite à chaque mélange. On neutralisa avec de la soude après des délais variables et on ajouta 5 cent. cubes d'eau physiologique pour diluer l'acide ou l'alcali restant en cas de neutralisation incomplète. On ensemença chaque mélange sur un ou deux tubes de milieu de culture convenable. Une partie de l'émulsion non traitée et diluée de la même façon fut utilisée comme témoin.

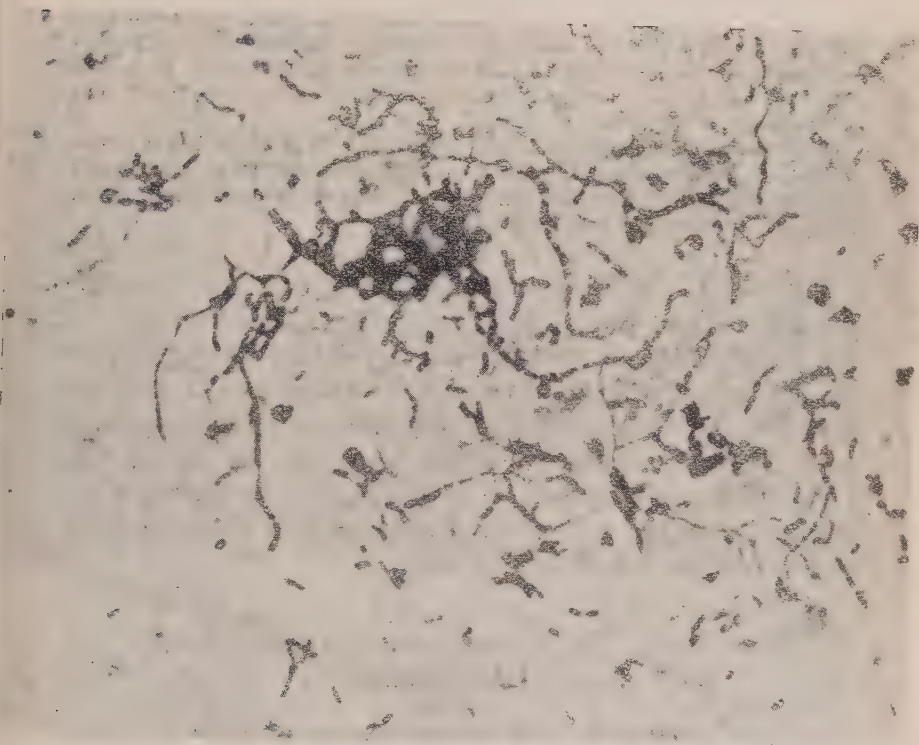


FIG. 3. — A 21-22-1800.

Les essais ont donné les résultats suivants :

*Streptothrix eppingeri*. — L'acide acétique à 15 p. 100 s'est montré plus toxique que l'acide sulfurique ; cependant, l'expérience répétée trois fois a donné des résultats très irréguliers. Le contact de quinze minutes avec l'acide sulfurique à 15 p. 100 a nettement empêché le développement. Le résultat d'une de ces expériences est exposé dans le tableau suivant.

*Streptothrix de Thomoff*. — Les résultats exposés dans le tableau

sont irréguliers ; néanmoins, on peut conclure à la nocivité de l'acide acétique à 15 p. 100 par comparaison avec l'acide sulfurique au même taux.

*Streptothrix* 4519. — La même remarque s'applique à cette souche.

*Streptothrix* 3258. — L'acide sulfurique et l'acide acétique à 15 p. 100 ont tué ce *Streptothrix* en quelques secondes ; ces acides, même à 5 p. 100, ont tué d'une manière irrégulière la plupart des germes dans la suspension en quelques secondes.

*Streptothrix* A 21-22. — L'acide sulfurique à 10 p. 100 s'est montré toxique, mais très irrégulièrement, tandis qu'aucune colonie n'était visible dans les émulsions où on avait ajouté l'acide acétique à 10 p. 100.

*Nocardia bovis*. — L'acide acétique et l'acide sulfurique à 10 p. 100 ont tué les formes filamenteuses en quelques secondes, mais des arthrospores ont résisté.

*Streptothrix* de Laporte. — L'acide acétique à 10 p. 100 a tué le streptothrix en quinze minutes, mais l'acide sulfurique s'est montré moins toxique, des germes résistant à une demi-heure de contact. Cette action toxique s'est montrée très irrégulière.

Les souches utilisées étant difficilement émulsionnables, la présence de grumeaux a nui à la régularité des résultats.

L'acide acétique a été plus toxique pour les Streptothricées que l'acide sulfurique. Les souches *Nocardia bovis* et *Streptothrix* 3258 se sont montrées plus fragiles que les autres (*eppingeri*, Thomoff, 4519, A 21-22, Laporte). En raison de l'incertitude des résultats, on ne peut pas isoler aisément les Streptothricées en traitant par l'acide sulfurique des produits contaminés par des germes banaux.

#### ETUDE DU pH DES CULTURES DE CERTAINES SOUCHES DE STREPTOTHRICÉES.

Lors d'une étude des cultures de bacilles tuberculeux, nous avons constaté que les variations du pH dans les différents ballons sont régulières si ces ballons sontensemencés dans des conditions identiques. Deux souches morphologiquement pareilles donnant des réactions du pH différentes peuvent ainsi se différencier.

Nous avons fait une série d'expériences de même ordre sur des cultures de Streptothricées en suivant la méthode colorimétrique de Long et Major [7]. 0,001 p. 100 de phénol-sulfone-phthaléine fut ajouté à 50 cent. cubes de milieu de Sauton contenu dans des ballons de verre neutre, dont le pH

**Toxicité de l'acide sulfurique et de l'acide acétique  
pour les Streptothricées.**

INTERVALLES de temps en minutes	<i>Eppingeri</i>		THOMOFF		4519	
	Acide sulfurique	Acide acétique	Acide sulfurique	Acide acétique	Acide sulfurique	Acide acétique
0 . . . . .	Abondant.	Abondant.				
5 . . . . .	Abondant.	0	2	0		Abondant.
10 . . . . .		Abondant	Abondant.	4	7	Abondant.
15 . . . . .	0	0	Abondant.	12	2	20
20 . . . . .	Abondant.	0	Abondant.	0	4	0
30 . . . . .	0 et abondant.	0	0	0	0	
Témoin . .	Très abondant.		Très abondant.		Abondant.	

INTERVALLES de temps en minutes	A 21-22		LAPORTE	
	Acide sulfurique	Acide acétique	Acide sulfurique	Acide acétique
0 . . . . .	2	0		1
5 . . . . .	30	0		0
10 . . . . .			1	Abondant.
15 . . . . .	4	0	1	0
20 . . . . .	0	0	0	0
25 . . . . .	6			
30 . . . . .	Abondant.		2	
Témoin . .	Abondant.		Abondant.	

avait été ajusté, avec de la soude, à 7,2. Après stérilisation du Sauton, nous avons mis à flotter à la surface de ce liquide, un fragment de voile des souches *Streptothrix eppingeri* et *Streptothrix* de Thomoff dans deux ballons pour chaque souche (à cette dose, l'indicateur employé ne diminue que faiblement le rendement de la culture). On a laissé les ballons dans l'étuve à 38°. La lecture du pH fut effectuée chaque semaine au moyen d'échelles colorimétriques contrôlées par la méthode électrométrique.

Dans le cas du *Streptothrix* de Thomoff, le pH a baissé de 7,2 à 6,4 dans les trois premières semaines ; entre la quatrième et la septième semaine, il s'est élevé à 7,3, mais à la fin de la huitième semaine, il est descendu de nouveau à 5,6. La souche *Streptothrix eppingeri* a acidifié progressivement



le milieu de culture de 7,2 à 6,25 en six semaines, mais le pH 6,25 atteint à la fin de la première semaine est resté presque stationnaire pendant ces six semaines. Dans notre étude du pH de certaines souches lisses de bacilles tuberculeux [8], nous avons observé des résultats différents entre les ballons contenant l'indicateur et ceux sans indicateur. Nous avons alors répété ces expériences en employant des ballons sans indicateur, le pH étant déterminé par le comparateur de Hellige.

L'étude du pH de certaines souches de bacilles tuberculeux ensemencées sur le milieu de Sauton et le bouillon glycérimé nous ayant donné des résultats différents dans certains cas, la mesure du pH des streptothricées fut faite sur ces deux milieux. Parmi les 10 souches utilisées (3238, Thomoff, *boris. gaiginskii*, 4319, *madurae eppingeri*, A 21-22, G 12 et Laporte). 5 se développent en voile en surface (3258, Thomoff, *eppingeri*, A 21-22, et Laporte) ; en général, les autres ne donnent pas de voile et poussent plus ou moins bien en profondeur. Les souches donnant un voile ont été ensemencées à la surface du milieu de Sauton et du bouillon glycérimé et les autres en profondeur. 2 ou 3 ballons contenant du milieu de Sauton et 4 ou 5 de bouillon glycérimé ont été utilisés pour chaque souche (ballons de 250 cent. cubes du modèle courant du laboratoire contenant 125 cent. cubes de milieu de culture ajusté à pH 7.2 avec de l'ammoniaque pour le milieu de Sauton et avec de la soude au même taux pour le bouillon glycérimé). Un ballon de chaque série a été utilisé pour la recherche du pH. le contenu des autres fut prélevé à de rares intervalles pour contrôler les résultats. Toutes ces cultures ont été effectuées à 38°. Il a été possible d'ouvrir plusieurs fois les ballons contenant le milieu de Sauton, mais le bouillon glycérimé était contaminé par ces ouvertures répétées en dépit des précautions prises pendant le prélèvement du liquide pour la lecture du pH. La contamination par des germes banaux se révélait généralement par un trouble uniforme. En cas de doute, l'examen microscopique et la culture ont toujours été effectués. Lors de résultats contradictoires, les mêmes essais ont été répétés.

Dans une étude du pH de certaines souches appartenant à un type de bacilles acido-résistants décrit par Saenz [9] et

par W. Schaefer [40], nous avons signalé l'effet, sur le pH, de quantités variables de milieu de culture ensemencé avec la même quantité de bacilles [41]. Un certain nombre de petits ballons contenant 50 cent. cubes de milieu de Sauton au lieu de 125 cent. cubes ont été ensemencés avec des souches diverses, en même temps.

Le tableau ci-joint résume les résultats d'une des expériences.

*Streptothrix 3258.* — Le milieu de Sauton a été d'abord légèrement acidifié, mais le résultat final après dix semaines a été une forte alcalinité ; le repiquage a donné une culture positive après neuf semaines. Le bouillon glycérimé a été progressivement acidifié dans deux expériences, mais dans les deux autres l'acidification initiale a été suivie par une alcalinisation finale. Dans 1 cas on a atteint le pH 8,2 en neuf semaines, mais dans l'autre seulement 7,6 dans le même temps, pourtant il s'est élevé à 8,4 après quinze semaines. Le repiquage après dix semaines d'un ballon de pH 5,2 a donné une culture négative.

*Streptothrix de Thomoff.* — La courbe du pH en milieu de Sauton a évolué vers l'alcalinité entre 7,7 et 8 pendant les deux ou trois premières semaines, ensuite elle est descendue jusqu'à 5,8 dans les grands ballons et à 4,6 dans les petits ballons ; l'indicateur ajouté au milieu de culture a modifié cette courbe. Les résultats ont été variables dans le bouillon glycérimé, une alcalinité plus ou moins progressive a été observée dans 2 cas et les variations du pH n'étaient pas appréciables dans la troisième expérience.

*Nocardia bovis.* — La croissance dans le milieu de Sauton a été très faible, une légère acidification initiale a été suivie d'une alcalinité de 7,4 ; le repiquage effectué après sept semaines a donné une culture négative. Le bouillon glycérimé a été favorable à la culture de cette souche, la courbe du pH est descendue jusqu'à 6 en sept semaines.

*Streptothrix gaiginskii.* — Le pH dans le milieu de Sauton a atteint 7,5 dans la première semaine et est resté presque stationnaire pendant huit semaines. Le bouillon glycérimé a été finalement acidifié jusqu'à 6 dans 2 cas et alcalinisé jusqu'à 7,8 dans 1 autre. Le repiquage de cette souche à partir d'un milieu de culture alcalin a donné une culture positive.

*Streptothrix 4519.* — Le milieu de Sauton et le bouillon glycérimé ont été progressivement acidifiés. Ces résultats ont été confirmés par la répétition des mêmes essais deux autres fois.

*Streptothrix madurae.* — Le milieu de Sauton n'étant pas favorable pour la culture de cette souche, la glycérine a été remplacée par 4 p. 100 de glucose. La culture dans ce milieu ainsi modifié a été assez abondante. Le pH a baissé de 7,2 à 5,6 en dix semaines. Le bouillon glycérimé a mieux convenu pour la culture que le milieu de Sauton modifié, la courbe du pH est descendue à 6,8 dans un cas et n'a pas changé appréciablement dans l'autre. Le liquide prélevé dans un tube

**Variations hebdomadaires du pH des Streptothricées  
dans le milieu de Sauton et le bouillon glyciné.**

SOUCHES	MILIEU DE CULTURE	SEMAINES											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14
Thomoff	Sauton.	7,6	8	8	6	6	6		6	5,8	5,8		
	Bouillon glyciné.	7,5	7,4	7,4	7,4	7,2	7,4	7,2	8	8	8,2		
Bovis . . .	Sauton.	7	7	6,7	7	7,2	7,5	7,4					
	Bouillon glyciné.	7	6,8	6,7	6,8	6,8	6						
Gaiginskii	Sauton.	7,5	7,5	7,4			7,4	7,6					
	Bouillon glyciné.	7					7,3	6	6	6,3			
4519. . . .	Sauton.	7	6,6	6	6,4	6,6	4,7	6	6	6	6		
	Bouillon glyciné.	7,6	6	6,7	6,6		6,7	6,7	6,7	6,7	6		
3258. . . .	Sauton.	7,4	6,8	6,7	6,7	7,4	7,4	7,5	8,5	8,7	8,6		
	Bouillon glyciné.	7,2	7,2	6,9	6,2		6,6	6	6	5,2	5,2		
A 21-22 . .	Sauton.	5,4		5			4,6	4,9			3,3		
	Bouillon glyciné.	7,2		8,2			8,6	8,6			6,7		
G 12. . . .	Sauton.				7,2	7,2	7,6	8,4			8,4		
	Bouillon glyciné.				7,4	7,6	6,9	6,8			6,6		
Laporte . .	Sauton.		7,8		8	7,6			6,2		6,2		
	Bouillon glyciné.		8,2		8,2	8,4			7,4		7	6	7
Maduræ . .	Sauton.		6,8		6,5	6,4	5,9				5,6		
	Bouillon glyciné.	7	7	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8		6,8		
Eppingeri .	Sauton.	6,2	5,3	5,4	5,7	5,4	5,4	5,4	4,9	3	2,9		
	Bouillon glyciné.	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	6,7	6,7	6,6	6,6	6,6	7	

de pomme de terre + bouillon glyciné neuf semaines après l'ensemencement titrait pH 6.

*Streptothrix eppingeri*. — Le milieu de Sauton contenu soit dans des petits ballons soit dans des grands ballons a été progressivement acidifié. Dans un cas, un fragment de voile épais ensemencé en surface n'a pas poussé, mais le pH a baissé de 7,2 à 6,9 en une semaine et est resté au même taux pendant trois semaines. L'indicateur ajouté au milieu de culture a empêché nettement l'abaissement du pH. La courbe du pH dans le bouillon glyciné est restée à 7,4 pendant cinq semaines, ensuite elle a évolué vers l'acidité pendant trois semaines, la réaction finale étant 6,6 dans un cas et 7 dans l'autre. Dans le bouillon ordinaire, le pH a été 7,5 neuf semaines après l'ensemencement.

*Streptothrix* A 21-22. — Le milieu de Sauton fut progressivement acidifié jusqu'à 3 après dix semaines, mais le bouillon glycérimé fut alcalinisé dans un cas et acidifié dans l'autre.

*Streptothrix* G 12. — Le milieu de Sauton fut progressivement acidifié, mais le bouillon glycérimé a montré une légère alcalinisation initiale suivie d'une réaction acide.

*Streptothrix* Laporte. — Le milieu de Sauton ayant subi une alcalinisation initiale est devenu fortement acide après quatorze semaines, pour le bouillon glycérimé, une alcalinité initiale a été suivie d'une réaction à 7 après quatorze semaines.

En raison de ces résultats irréguliers, les variations du pH des cultures ne peuvent être utilisées ni pour la différenciation des souches, ni pour leur classification.

#### PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES DES STREPTOTHRICÉES.

Toutes les souches en étude se sont montrées peu virulentes ou avirulentes pour le cobaye. L'inoculation même de doses massives n'a pas produit de lésions généralisées.

Certaines souches (*eppingeri*, Thomoff, 3258, 4519, A 21-22, Laporte) inoculées à des cobayes par voie sous-cutanée ou péritonéale aux doses de 20 à 100 milligrammes ont donné des lésions locales disparaissant en quelques jours. Le rat blanc s'est comporté comme le cobaye à l'égard de *Streptothrix eppingeri*.

Certaines souches (*bovis*, *gaiginskii* et G 12) inoculées au cobaye par voie sous-cutanée à la dose de 20 à 30 milligrammes se sont montrées inoffensives.

L'inoculation de *Streptothrix eppingeri* par voie veineuse au cobaye a donné des foyers de congestion et quelques abcès dans les reins contenant l'agent infectieux, mais la mort de ces animaux n'est pas survenue.

2 à 4 milligrammes des souches *eppingeri* ou Thomoff inoculées par voie dermique ont donné en vingt-quatre heures des papules œdémateuses de 1 centimètre à 1 cent. 5 de diamètre, mais nous n'avons pas réussi à mettre en évidence la dispersion du *Streptothrix* dans les organes du cobaye.

En ce qui concerne le *Streptothrix madurae*, rien d'anor-



mal n'est apparu après une inoculation de 30 milligrammes, mais chez un cobaye infecté avec 90 milligrammes par voie péritonéale et 6 milligrammes dans la région plantaire, une hémorragie dans la région plantaire et une légère tuméfaction des ganglions inguinaux avec présence de streptothricées étaient décelables après deux mois.

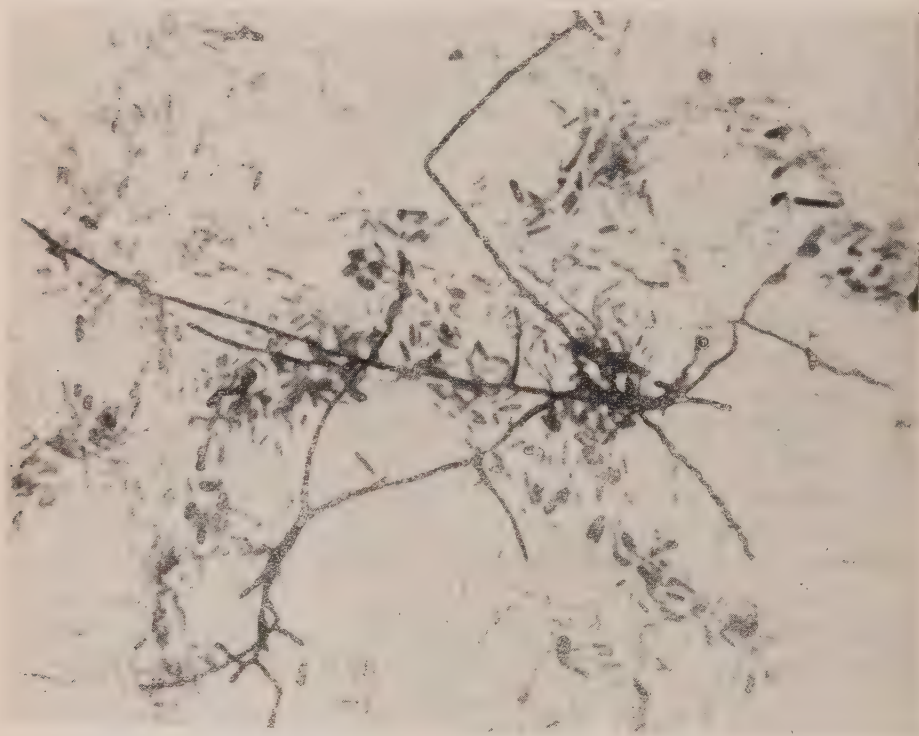


FIG. 4. — G 12-1800.

Les essais d'augmentation de virulence par passages successifs, soit par voie sous-cutanée, soit par voie péritonéale, ont échoué.

Pour les souches *eppingeri*, Thomoff et 4519, la surinfection des cobayes a abouti à la production de lésions plus intenses et durant plus longtemps que chez les cobayes primo-infectés.

## POUVOIR ALLERGISANT DES STREPTOTHRICÉES.

Bretey [2] a observé chez les cobayes tuberculeux des intradermo-réactions positives à la streptothricine, mais des cobayes sensibilisés avec des streptothricées n'ont pas donné la réaction de Mantoux à la tuberculine. Cet auteur a éprouvé les cobayes six semaines seulement après l'inoculation de 10 à 30 milligrammes de streptothricées par voie péritonéale. La période antéallergique est d'autant plus longue que les bacilles inoculés sont moins pathogènes. Etant donnée la faible virulence ou la non virulence des streptothricées, des doses plus fortes et des délais d'épreuve plus éloignés sont peut-être susceptibles de produire des réactions croisées à la tuberculine chez les cobayes sensibilisés avec des streptothricées.

## MODE DE PRÉPARATION DE LA STREPTOTHRICINE.

Chacune des souches que nous avons étudiées a été ensemencée sur bouillon glyciné et laissée à l'étuve à 38° pendant trente jours. L'extrait a été préparé selon la technique suivie pour la préparation de la tuberculine brute.

Les épreuves intradermiques ont été effectuées sous le volume de 0 c. c. 4.

Il ressort de nos expériences que les cobayes sensibilisés avec des streptothricées deviennent hypersensibles à l'extrait correspondant et à la tuberculine. Comme chez les animaux injectés avec des bacilles tuberculeux de faible virulence ou non virulents (A. Boquet et J. Bretey [12]), la courbe de l'hypersensibilité s'élève lentement, elle atteint son intensité maximum entre le cinquième et le huitième mois, reste ensuite stationnaire pendant plusieurs semaines, puis décroît lentement entre le septième et le onzième mois. Il existe des différences individuelles dans le degré de l'allergie chez des cobayes sensibles vis-à-vis de l'extrait correspondant ou de la tuberculine.

### RÉACTIONS ALLERGIQUES CROISÉES DE LA PEAU AUX STREPTOTHRICINES.

Dans les expériences précédentes, les cobayes ont réagi, en général, de la même façon à l'extrait correspondant et à la tuberculine. Nous avons essayé de différencier nos souches par les réactions allergiques croisées de la peau aux streptothricines.

Nous avons inoculé à des cobayes de 30 à 110 milligrammes de streptothricées et éprouvé ces animaux par des extraits homologues et hétérologues dilués au  $\frac{1}{3}$  à la dose de 0 c. c. 1.

Un certain nombre de résultats sont résumés dans le tableau ci-joint. Les cobayes n'ont pas réagi d'une façon régulière, et il est évident que d'après ce tableau on ne peut pas différencier des souches par l'épreuve intradermique. Les bacilles tuberculeux des mammifères n'ont pu être différenciés par l'épreuve des réactions allergiques croisées. Chez les cobayes neufs, nous n'avons pas observé de réactions à la tuberculine ou à la streptothricine, mais des cobayes inoculés avec des produits suspects non virulents et séjournant dans des cages pendant des semaines, ont parfois donné des réactions de la peau à la tuberculine ou à la streptothricine. En général, un petit épaissement de la peau a été observé atteignant quelquefois une dimension de 7 à 10 millimètres.

### RÉACTIONS ALLERGIQUES DES ANIMAUX TUBERCULEUX AUX STREPTOTHRICINES.

Les cobayes sensibilisés avec des streptothricées ayant réagi à l'intradermo-tuberculation, il était intéressant de savoir si l'inverse se produit aussi.

Des cobayes ayant été inoculés soit avec des bacilles tuberculeux des mammifères, soit avec des bacilles aviaires aux doses de  $\frac{1}{100.000}$  de milligramme à  $\frac{1}{10}$  de milligramme, un à six mois auparavant, des extraits de streptothricées ont été essayés sur ces animaux à différentes dilutions (0 c. c. 1 au  $\frac{1}{10}$  et au  $\frac{1}{3}$ ).

## Réactions allergiques croisées de la peau aux streptothricines.

SOUCHE	DÉLAIS D'ÉPREUVE (semaines)	NOMBRE de cobayes	RÉSULTATS en millimètres d'inoculation d'extraits différents					
			<i>Eppingeri</i>	Thomoff	<i>Maduræ</i>	3258	4519	A 21-22
<i>Eppingeri</i> . . .	3	3	20 à 25	0				
		1	0	0				
	16	2	20 à 30			0		
		2	20 à 30			15 à 20		
Thomoff. . . .	3	1	10	20				
		3	0	0				
	9	2				0	0	
	28	1		10		10	10	
	34	1	5	8	6	10		
	38	1		7	6	9		
	18	2	10 à 10	10 à 25				10 à 15
3258. . . . .	28	2		12	13	10 à 12		
	22	1				15	20	10
	27	1	0	6		6	0	
	32	1		11	14			
4519. . . . .	21	1			25	20	20	
	27	1	11	12	11		12	
	32	1		15	13	10		
<i>Maduræ</i> . . . .	17	2			15	8	8	
	24	1	10	10	11		12	
	28	1		3	5	3		
	31	2			15	10	10	
	38	2	15		10	10	12	
	44	2	10 à 15		10 à 15	5 à 10		
A 21-22. . . . .	9	1	0	0				0
	16	1				6	5	7
G 12 . . . . .	5	2				0	0	0 à 0
	12	2	10	7		10 à 17	10 à 13	
	20			10		7 à 10		
Laporte . . . . .	5	2				0 à 10	0 à 6	10
	12	2	0	0 à 7	6	5 à 8		
Témoins. . . .	20			0 à 11	10	9 à 11		
	12	3	0 à 12	4 à 5		0 à 5	0 à 6	0

*Streptothricine Thomoff*, 1/10 : 11 cobayes, 7 réactions positives (5 papules de 1 cent. 5, 1 papule de 2 centimètres, 1 papule de 0 cent. 8 de diamètre, papules rosées ou blanchâtres, dont une nécrotique) pour les 4 autres, aucune réaction ou de très petites papules. 16 autres cobayes inoculés soit avec des bacilles des mammifères, soit avec des bacilles aviaires n'ont pas donné de résultats positifs à la streptothricine.



*Streptothricine Thomoff*, 1/5 : 7 cobayes d'une série, 6 réactions positives (papules de 0 cent. 8 à 2 centimètres de diamètre).

*Streptothricine 3258*, 1/10 : 10 cobayes, 5 réactions positives (papules rosées ou blanchâtres de 1 cent. 5 à 2 centimètres de diamètre) ; 1/5 : 9 cobayes d'une autre série, 7 réactions positives (papules de 0 cent. 6 à 1 centimètre de diamètre).

*Streptothricine 4519*, 1/10 : 10 cobayes, 4 réactions positives (papules de 0 cent. 6 à 1 cent. 5 de diamètre) ; 1/5 : 9 cobayes d'une autre série, 7 réactions positives (papules de 0 cent. 6 à 1 centimètre de diamètre), les deux autres ont donné des papules très petites.

*Streptothricine eppingeri*, 1/10 : 16 cobayes, 13 réactions positives (papules de 0 cent. 6 à 3 centimètres de diamètre, dont 3 nécrotiques), dans 1 cas considéré comme négatif, une petite hémorragie est apparue. 11 cobayes inoculés avec des bacilles aviaires ont donné soit de très petits nodules, soit des réactions négatives.

*Streptothricine A 21-22*, 1/5 : 16 cobayes, 16 réactions positives (papules de 1 centimètre à 1 cent. 5 de diamètre, dont 3 nécrotiques).

Les petits nodules de 0 cent. 2 à 0 cent. 5 de diamètre ont été considérés comme négatifs, la dimension de la partie nécrotique n'a jamais dépassé la grosseur d'une tête d'épingle.

Ces expériences montrent que les cobayes tuberculeux réagissent, en général, à la streptothricine, mais plus faiblement qu'à la tuberculine.

#### RÉACTIONS THERMIQUES DES ANIMAUX SENSIBILISÉS.

L'étude des réactions locales a permis de constater que la sensibilité des tuberculeux n'est pas étroitement limitée à la tuberculine. En ce qui concerne la sensibilité générale, d'après Irimescu [43], les paratuberculines du bacille de la fléole, du bacille pisciaire et du bacille de l'orvet, injectées à des cobayes tuberculeux, à la dose de 0 c. c. 25 au minimum, déclenchent, à partir de la troisième heure, une réaction thermique supérieure à 1°. Selon A. Boquet [14], les lapins sensibilisés par une injection intraveineuse de 60 à 80 milligrammes de bacilles de l'entérite hyperthrophiante, réagissent, par une hyperthermie qui dépasse 1° vers la cinquième heure, à l'injection de 0 c. c. 1 à 0 c. c. 5 de johnine ou d'une dose égale de tuberculine. Chez les lapins tuberculisés depuis deux mois, l'injection de 0 c. c. 5 à 0 c. c. 7 de cet extrait est suivie d'une réaction thermique de 0°5 à 0°7, avec 0 c. c. 2 l'hyperthermie atteint 1°7 à la cinquième heure. Nous avons

recherché le même fait en injectant des streptothricines à des animaux sensibilisés soit par des bacilles tuberculeux, soit par des streptothricées.

Des lapins ont été préparés par l'inoculation de bacilles tuberculeux : *a)* morts, *b)* biliés, *c)* peu virulents, et *d)* avirulents. Les détails des doses et les détails d'infection se trouvent dans notre note [15] publiée avec C. Ajo.

Chez 10 lapins donnant une réaction thermique à la tuberculine, nous avons inoculé par voie veineuse, 1 cent. cube de streptothricine diluée au 1/20. 4 lapins ont été éprouvés avec la streptothricine *eppingeri*, deux ont donné des réactions positives. Parmi les 6 lapins qui ont reçu de la streptothricine Thomoff, 2 ont présenté une élévation de température supérieure à 0°8 ; dans un cas la température baissa de 0°6 en six heures ; les autres cas présentant une élévation de température inférieure à 0°8 ont été considérés comme négatifs.

13 cobayes tuberculisés depuis trois à dix semaines avec 1/10 de milligramme de bacilles tuberculeux des mammifères ont reçu par voie péritonéale 1 cent. cube au 1/20 de tuberculine brute. 8 cobayes ont montré une baisse de température supérieure à 1°. Chez un autre, la température s'est élevée de 0°8 en trois heures. 6 des animaux ainsi éprouvés sont morts en quelques heures.

Chez d'autres cobayes tuberculisés trois à huit semaines auparavant, nous avons injecté 1 cent. cube de streptothricine *eppingeri* au 1/10 par voie péritonéale. La température s'est élevée chez 4 cobayes de 1°1 à 1°9 à partir de la troisième heure après l'inoculation ; dans 2 cas, une baisse de 0°4 à 0°9 a été observée, le septième cobaye ne réagit pas. Chez un autre cobaye tuberculeux cachectique, 1 cent. cube de tuberculine au 1/10 a produit une baisse de température à 35°2 en quatre heures ; le cobaye est mort le lendemain matin.

10 cobayes sont sensibilisés par inoculation de 30 à 50 milligrammes de streptothricées. Neuf à trente et une semaines plus tard, 1 cent. cube à 1/20 de streptothricine injecté par voie péritonéale, a produit, chez ces animaux, une élévation de température de 0°9 à 1°6 dans 6 cas. Dans 1 cas, la température a baissé de 0°5 ; 3 autres cas qui présentaient une hyperthermie inférieure de 0°9 ont été considérés comme négatifs.

tifs. Dans ces expériences, des streptothricines hétérologues ont donné les mêmes résultats que les homologues.

Aucun de ces cobayes éprouvés par injection intra-péritonéale de 1 cent. cube de tuberculine brute au 1/20 n'a donné une hausse de température supérieure à 0°9 ; dans 2 cas, une baisse initiale de température de 1° à 1°2 a été observée.

8 cobayes tuberculisés depuis cinq à neuf semaines ont reçu 4 cent. cubes de streptothricine au 1/5 par voie sous-cutanée. Une réaction thermique s'est produite chez 7 cobayes, le huitième cobaye montrant une élévation de 1°7. En aucun cas la mort de l'animal ne s'est produite.

Cette étude des réactions thermiques a montré que les animaux allergiques, surtout les cobayes, ne réagissent pas d'une façon régulière vis-à-vis de l'extrait correspondant ou d'extraits hétérologues. Avec C. Ajo [15], nous avons observé que les lapins ne peuvent pas être employés pour la recherche de l'allergie par voie dermique. Les réactions thermiques à la streptothricine ont donné 4 résultats positifs sur 10 chez les lapins allergiques à la tuberculine. 1 cent. cube au 1/20 de tuberculine injecté par voie péritonéale a amené la mort de 6 cobayes sur 13 cobayes tuberculeux, tandis que 4 cent. cubes de streptothricine au 1/5 injectés par voie sous-cutanée se sont montrés inoffensifs chez 8 cobayes tuberculeux.

#### RÉACTION OCULAIRE ALLERGIQUE CHEZ LE LAPIN TUBERCULEUX.

Nous avons décrit avec C. Ajo [15] une réaction oculaire allergique par injection de tuberculine diluée dans la chambre antérieure de l'œil du lapin tuberculeux. Arloing [16], instillant de la tuberculine sur la conjonctive oculaire d'animaux immunisés activement contre diverses toxines microbiennes, celles des bacilles diphtérique, tétanique ou typhique, par exemple, rapporte qu'il a obtenu une ophtalmo-réaction positive, plus ou moins intense. Calmette et Guérin [17] ont constaté une sensibilité particulière à la tuberculine chez des lapins récemment infectés par voie veineuse avec du bacille

typhique, mais la rougeur conjonctivale a été inconstante, et ne présentait pas la couleur spéciale lie de vin.

En vue d'étudier ces réactions non spécifiques à la tuberculine, nous avons fait une étude plus approfondie de la réaction oculaire chez des lapins. 13 lapins traités par des bacilles



FIG. 5. — Laporte-1800.

morts ou infectés avec des bacilles biliés, peu virulents ou avirulents ont été utilisés dans ces expériences. Les réactions oculaires ont été effectuées presque en même temps que les réactions thermiques (les détails des doses et les délais d'infection se trouvent dans notre note [45]). Quatorze jours après l'épreuve tuberculinique oculaire, la streptothricine au 1/40 a été injectée dans la chambre antérieure d'un œil, du bouillon glyciné, sous le même volume et à la même dilution que



la streptothricine a été injecté dans l'autre œil. 5 lapins ont reçu de la streptothricine dans le même œil qui avait réagi à la tuberculine quatorze jours auparavant ; dans 3 cas, on n'observa qu'une congestion conjonctivale et du larmolement ; mais, dans deux autres cas, ces symptômes s'accompagnèrent d'opacité de la cornée et d'un exsudat blanc grisâtre. Chez les 6 autres lapins injectés avec du bouillon glycérimé dans le même œil, il se produisit des réactions de même genre. Sur 8 cas, l'injection de streptothricine dans l'œil qui avait seulement subi une inoculation de bouillon glycérimé et dilué n'a donné aucune réaction dans 3 cas, elle a donné une congestion et du larmolement dans 4 cas (réaction légère), et dans un cas seulement une réaction oculaire nette accompagnée d'opacité de la cornée ; le bouillon glycérimé a produit une réaction légère dans 1 cas sur 2.

Etant donné le réveil des ophtalmo-réactions antérieures produit par une nouvelle injection de bouillon glycérimé ou de streptothricine chez des animaux ayant déjà été éprouvés, l'étude des réactions oculaires produites par la streptothricine chez les animaux tuberculeux, inoculés dans les yeux auparavant, n'a pu être réalisée. C'est pourquoi nous avons injecté pour la première fois chez 6 lapins (inoculés par voie trachéale avec 1/1.000.000 à 1/10.000.000 de milligramme de bacilles tuberculeux bovins, huit semaines auparavant) la streptothricine au 1/10 dans la chambre antérieure. 5 cas ont donné des résultats négatifs, un seul a montré une congestion de la sclérotique avec opacité de la cornée ; 3 lapins neufs, inoculés comme témoins, ont également donné des résultats négatifs. Les lapins sensibles ont été injectés cinq jours après avec de la tuberculine au 1/10 dans l'œil ayant reçu auparavant du bouillon glycérimé : tous (6 cas) ont donné des réactions nettes à la tuberculine. Le lapin réagissant auparavant à la streptothricine a donné une réaction très marquée, accompagnée d'exophtalmie et de myosis.

En ce qui concerne les animaux inoculés avec des bacilles n'ayant aucun rapport avec les bacilles tuberculeux ou les streptothricées, nous avons observé les résultats suivants :

Un lapin a reçu 10 milligrammes de *B. coli* par voie vei-

neuse, la réaction oculaire à la tuberculine pratiquée après trois jours a donné des résultats négatifs.

Un lapin a été inoculé trois fois avec 20 milligrammes de *B. subtilis* par voie veineuse à quatre ou cinq jours d'intervalle. Trois jours après la dernière inoculation, l'épreuve oculaire à la tuberculine a donné une congestion avec opacité de la cornée, mais le bouillon glycérimé inoculé dans l'œil opposé a également donné à peu près le même résultat.

Un lapin a reçu 20 milligrammes de *B. coli* par voie veineuse quatre jours auparavant. La streptothricine Thomoff au 1/10 a provoqué une congestion de la conjonctive avec opacité de la cornée ; par contre, la streptothricine *eppingeri* injectée dans l'œil opposé a donné un résultat négatif. Un autre lapin inoculé avec 10 milligrammes de *B. coli* par voie veineuse dix-huit heures auparavant a donné une congestion conjonctivale plus marquée avec la streptothricine *eppingeri* qu'avec la streptothricine Thomoff. Le troisième lapin ayant reçu 10 milligrammes de *B. coli* par voie veineuse six heures après l'inoculation oculaire de la streptothricine *eppingeri* a montré une congestion nette et du larmolement ; l'œil opposé donna une réaction négative au bouillon glycérimé.

Le nombre de ces expériences d'allergie non spécifique chez les animaux inoculés soit avec le *B. coli*, soit avec le *B. subtilis*, n'est pas assez grand pour tirer des conclusions ; mais, vraisemblablement, il s'agit du même phénomène que celui décrit par Paul Bordet [18] et Jules Freund [19].

Ces expériences montrent que la réaction oculaire allergique chez le lapin tuberculeux peut être réveillée par la réinjection de bouillon glycérimé. Les lapins tuberculeux présentent très rarement une allergie locale à la streptothricine. Le phénomène d'hétéro-allergie a été décelable irrégulièrement chez les lapins inoculés, soit avec le *B. coli*, soit avec le *B. subtilis*.

#### SENSIBILITÉ DU CERVEAU DES COBAYES TUBERCULEUX A LA STREPTOTHTRICINE.

Les expériences ont démontré que le bouillon glycérimé est toxique pour le cerveau de cobaye, mais par dilution conve-

nable, il est possible de différencier l'action du bouillon glycérimé et de la streptothricine, celle-ci possédant une certaine toxicité pour les cobayes tuberculeux.

INOCULATION DERMIQUE DE CORPS MICROBIENS  
(Phénomène de Koch.)

Des corps microbiens de *Streptothrix eppingeri*, *Streptothrix* 3258 et de Bacilles tuberculeux humains « Test » tués à l'autoclave, séchés, broyés et mis en suspension dans l'eau physiologique, ont été inoculés par voie intradermique à des cobayes qui avaient reçu ces mêmes streptothricées et à des cobayes tuberculeux. La dose était de 1 milligramme (pesée à l'état sec) contenu dans 0 c. c. 1.

Par inoculation de 1 milligramme de corps bacillaires, nous n'avons pas réussi à reproduire le phénomène de Koch avec les streptothricées chez les cobayes tuberculeux, tandis que les bacilles tuberculeux inoculés comme témoins ont donné des résultats positifs. Par contre, les bacilles tuberculeux morts, inoculés chez des cobayes sensibilisés par des streptothricées, ont donné presque les mêmes résultats que les germes homologues. Nous avons répété ces expériences en employant 4 milligrammes au lieu de 1 milligramme de corps bacillaires contenus dans 0 c. c. 2 d'eau physiologique.

a) Cobayes tuberculeux inoculés neuf semaines auparavant avec 1/1.000.000 de milligramme de bacille bovin, 5 cobayes éprouvés par des corps bacillaires *eppingeri* : papules de 0 cent. 8 à 1 centimètre dans 4 cas comme chez 2 cobayes normaux, une réaction positive (nécrose de 4 millimètres au centre d'une papule de 2 centimètres de diamètre) ; corps bacillaire test : papules de 1 cent. 3 à 3 cent. 5 de diamètre au lieu de 1 cent. 5 de diamètre chez 2 cobayes normaux.

b) Cobayes tuberculeux inoculés cinq semaines auparavant avec 3 milligrammes d'une souche humaine, 4 cobayes éprouvés avec des corps microbiens d'*eppingeri* : 4 réactions positives (nécrose de 5 à 7 millimètres de diamètre au centre des papules de 1 centimètre à 1 cent. 5 de diamètre) ; corps microbien test : 4 réactions positives, papules de 2 cent. 5 à 3 cent. 5 de diamètre ayant une nécrose centrale nette.

On peut conclure que les streptothricées donnent le phénomène de Koch chez les cobayes tuberculeux, mais la dose à employer doit être plus forte que celle de bacilles tuberculeux.

INOCULATION INTRAPÉRITONÉALE DE STREPTOTHRICÉES.  
(PHÉNOMÈNE DE BAIL.)

15 cobayes tuberculeux (infectés soit avec des bacilles des mammifères soit avec des bacilles aviaires) ont été inoculés par voie péritonéale avec 100 milligrammes de streptothricées vivantes. Ils n'ont présenté aucune réaction appréciable. Chez des cobayes sacrifiés nous avons observé les mêmes lésions que chez les cobayes neufs inoculés comme témoins. 300 milligrammes de streptothricées pesés à l'état sec ont été émulsionnés dans 10 cent. cubes d'eau physiologique et inoculés par voie péritonéale chez 8 cobayes tuberculeux. 2 cobayes sont morts après quarante-huit heures seulement, présentant un épanchement séreux dans la plèvre et dans le péritoine ; les 2 cobayes neufs sont restés apparemment normaux.

Ces résultats doivent être tenus pour négatifs.

CONCLUSIONS

Ces expériences démontrent la présence d'un antigène commun aux bacilles tuberculeux et aux streptothricées.

En effet :

1° Les cobayes sensibilisés avec des streptothricées ont réagi à l'injection dermique de tuberculine et de streptothricine, les réactions étant presque de la même intensité, en général, à l'extrait correspondant ou hétérologue et à la tuberculine.

2° Les cobayes tuberculeux ont réagi à l'injection dermique de streptothricine, mais plus faiblement qu'à la tuberculine.

3° Les cobayes et les lapins sensibles à la tuberculine ont donné irrégulièrement des réactions thermiques à l'extrait de streptothricées. Le pouvoir toxique de la streptothricine injectée par voie sous-cutanée est faible pour les cobayes tuberculeux.

4° Les lapins étant impropres à l'étude allergique de la peau, l'allergie locale a été étudiée par voie oculaire. Les lapins tuberculeux ont donné très rarement une réaction allergique locale à la streptothricine.

5° La streptothricine inoculée par voie cérébrale à des cobayes tuberculeux s'est montrée toxique dans une certaine mesure.



6° Les streptothricées tuées ont donné le phénomène de Koch, mais moins fortement que les bacilles tuberculeux.

7° Le phénomène de Bail n'a pas été obtenu, ce qui démontre la faible toxicité de streptothricées vis-à-vis des cobayes tuberculeux.

RAPPORT ANTIGÉNIQUE ENTRE LES STREPTOTHRICÉES  
LES *Mycobacterium* ET LES *Corynebacterium*.

Les Streptothricées, les *Mycobacterium* et les *Corynebacterium* forment un groupe naturel en raison de leurs rapports morphologiques et microchimiques. L'étude de l'allergie a démontré l'existence de relations antigéniques entre les Streptothricées et les Mycobactéries. Par l'étude sérologique, Fritsche [20] et Claypole [21] ont signalé un antigène commun entre les streptothricées (acido-résistants ou non acido-résistants) et les bacilles acido-résistants, mais Claypole a pu différencier les antigènes homologues et hétérologues en faisant varier la quantité d'antigène dans les expériences de fixation de l'alexine. Massol, Boquet, Nègre et Urbain [22] ont décelé un antigène commun aux bacilles tuberculeux et aux bacilles diphtériques. Furth et Aronson [23] ont observé une différence sérologique entre les bacilles tuberculeux aviaires et les bacilles des mammifères et les autres bacilles acido-résistants. Rice et Reed [24] ont constaté que les antigènes spécifiques du type se trouvent seulement chez les bacilles d'aspect lisse. D'après Schaefer [25], la variante R du bacille aviaire ne contient pas les anticorps aviaires spécifiques, mais seulement les anticorps communs au groupe entier des bacilles acido-résistants, mais l'antisérum obtenu par injection de la variante S du bacille aviaire contient, à côté d'un anticorps capable de réagir avec les extraits alcooliques de tous les bacilles acido-résistants, un anticorps spécifique pour le bacille aviaire. Tenant compte des constatations des auteurs cités ci-dessus, on peut admettre l'existence d'un antigène commun non seulement au groupe des bacilles acido-résistants, mais encore à certains bacilles non acido-résistants. Bretey [26] a décrit un antigène commun aux bacilles acido-résistants et aux streptothricées, mais le sérum anti-

fléole a réagi plus fortement vis-à-vis d'un antigène streptothrix que vis-à-vis de l'antigène homologue. Cet auteur conclut que les streptothricées sont de mauvais antigènes *in vivo* et *in vitro* (à l'exception de l'antigène Streptothrix de Thomoff vis-à-vis du sérum anti-fléole *in vitro*). Peut-être par l'inoculation de doses plus fortes et plus fréquentes pourrait-on obtenir des sérums donnant des réactions aussi fortes que les sérums tuberculeux ou paratuberculeux.

Nous avons répété ces expériences en vue de préciser le degré du rapport antigénique entre les bacilles acido-résistants et les streptothricées.

Nous nous sommes servi d'extraits méthyliques préparés selon la méthode de Boquet et Nègre. Toutes les souches de streptothricées en étude étant difficilement émulsionnables, les suspensions aqueuses ne pouvaient donner de bons résultats.

Les sérums ont été préparés chez plusieurs lots de lapins qui recevaient 4 à 8 injections de 20 à 100 milligrammes de streptothricées vivants en émulsion par voie veineuse, à des intervalles de trois à sept jours.

Tous les animaux furent saignés de sept à quinze jours après la dernière inoculation et les sérums provenant des lapins d'un même lot furent mélangés. Les différences de doses et les délais d'inoculation furent variés selon la résistance des animaux. Des lapins supportant sans perte de poids des doses plus fortes furent inoculés avec ces doses, d'autres ont reçu des doses plus faibles à des intervalles plus éloignés. Les lapins ayant reçu des doses suffisantes et paraissant malades furent sacrifiés à des délais assez courts après la dernière inoculation.

La recherche des anticorps a été faite selon la technique de Calmette et Massol ; 1 cent. cube de dilution au 1/20 d'antigène méthylique a été employé.

Nous avons employé aussi des antisérums préparés avec d'autres antigènes en dehors des streptothricées (B. tuberculeux, B. para-tuberculeux et B. diphtérique). Certains de ces antigènes et les antisérums ont été préparés par W. Schaefer qui a bien voulu les mettre à notre disposition. 5 à 10 milligrammes des émulsions bacillaires chauffées pendant une heure à 70° ont été inoculés par voie veineuse à des lapins, de 6 à 10 reprises, ces animaux étant sacrifiés six jours après la dernière injection.

Bretey [26] a inoculé à des lapins tous les cinq jours et à 5 reprises, par voie veineuse, 20 milligrammes de streptothi-

TABLEAU 1. — Fixation par les antisérums appartenant au groupe étudié en présence d'antigènes homologues et hétérologues.

ANTISÉRUM	NOMBRE D'UNITÉS D'ALEXINE fixées en présence d'antigène					
	Tuberculeux	Diphtérique	Correspondant	3258	Eppingeri	Fléole
Bacilles tuberculeux :						
Aviaires R . . . . .	400	400	400	400	200	
Aviaires S . . . . .	30		90		0	
Beurre S . . . . .	60				40	
B. tuberculeux des mammifères :						
Ratti R. . . . .	400	400		600	400	
Vallée R. . . . .		400		250 m	250 m	
Laporte R . . . . .	40	40			50	
Laporte S . . . . .	400	200			400	
Bacilles Paratuberculeux :						
Rabin. R. . . . .	400	400	700	500	200 m	
Rabin. S . . . . .	30		240 m	0		
Crottin R. . . . .	200	200 m	200	200	100	
Crottin S. . . . .	30	30	270 m	60	30 m	
Fléole R . . . . .				600 m		600 m
Bacilles de type particulier :						
36 S . . . . .	300	450	200	400	40	
BCG . . . . .	200	200			500	
B. des animaux à sang froid :						
Serpent R . . . . .		40	400	40	0	
M. R . . . . .	20	0	200	0	0	
Eppingeri . . . . .	400		400	300		400
Eppingeri, deuxième sérum . . . . .				450		450
Eppingeri, troisième sérum . . . . .				50		50
Eppingeri, quatrième sérum . . . . .				250		250
Eppingeri, cinquième sérum . . . . .	40		40			
3258 . . . . .	20	80			50	
Thomoff . . . . .	150				200	
Thomoff, deuxième sérum . . . . .	400 m				90 m	70
A 21-22 . . . . .	20		40		30	20
Diphtérique bacillaire . . . . .	200		200 m	400	400	
Diphtérique antitoxique . . . . .			6	0		
m, minimum; R, rugueux; S, lisse.						

cées et les titrages des antisérums n'ont décelé qu'un petit nombre d'unités d'anticorps variant de 50 à 100 en général. Nous avons aussi obtenu des sérums contenant peu d'anticorps, mais chez un lapin recevant de 20 à 40 milligrammes

à 9 reprises, le nombre d'unités d'anticorps a été de 400. Les essais préliminaires de fixation avec la streptothricine homologue au lieu d'antigènes méthyliques n'ont pas donné de résultats satisfaisants. Le sérum anti-Str. *eppingeri* a donné 400 unités avec l'antigène méthylique homologue et seulement 100 unités avec la streptothricine correspondante diluée au 1/20 ou au 1/10. Dans un autre cas le sérum anti-Str. *eppingeri* a donné 150 unités avec l'antigène méthylique Str. 3258 et seulement 50 unités avec la streptothricine correspondante diluée au 1/20 ou au 1/10.

Les résultats de quelques expériences sont résumés dans le tableau I.

Les expériences ont été répétées deux ou trois fois selon la même technique. Le nombre d'unités d'anticorps fixées varie dans une certaine mesure dans ces expériences répétées, le titrage de l'alexine ne pouvant être fait d'une façon rigoureusement exacte.

Les antisérums employés appartiennent aux groupes des bacilles tuberculeux (aviaires et mammifères lisses et rugueux), des paratuberculeux (lisses et rugueux), d'un « type particulier » isolé du cobaye, des streptothricées et du bacille diphtérique. Les résultats démontrent l'existence d'un antigène commun à tous ces bacilles. D'une façon générale le maximum d'unités d'anticorps n'a pas été obtenu avec l'antigène homologue. Les antigènes *streptothrix* se sont montrés aussi actifs pour les antisérums divers que les antigènes tuberculeux ou correspondants, sauf pour les souches de paratuberculeux Crottin S et Rabinowitsch beurre S et de l'aviaire A S. La présence d'anticorps spécifiques est nettement démontrable dans ces trois souches. Les antigènes homologues fixent en effet au moins 240 à 270 unités, tandis que les antigènes hétérologues tuberculeux ou *eppingeri* fixent avec les antisérums paratuberculeux 0 à 60 unités, et avec l'antisérum aviaire A S 90 unités seulement. Griffith [27] a pu différencier les bacilles tuberculeux des mammifères des bacilles aviaires, par l'épreuve d'agglutination, mais il a utilisé dans ces études seulement les variantes lisses du bacille aviaire. Les trois souches qui, d'après



nos expériences, contiennent des antigènes spécifiques appartiennent aux souches lisses.

Mais les espèces acido-résistantes Serpent R et M (étudiées par Griffith [28]) sont rugueuses et contiennent un antigène spécifique, l'antisérum correspondant réagissant fortement avec l'antigène homologue et donnant peu de fixation avec les antigènes hétérologues. R. Laporte, qui a fait une étude approfondie des bacilles tuberculeux bovins lisses, a mis à notre disposition les antisérums préparés chez des chevaux avec les bacilles bovins lisses et rugueux. Nous n'avons pas observé de différences appréciables vis-à-vis des antigènes divers, l'antisérum S contenant plus d'anticorps que l'antisérum R.

En ce qui concerne le bacille diphtérique, l'antisérum préparé avec les corps bacillaires a donné une bonne fixation avec divers antigènes méthyliques, mais le sérum antitoxique s'est montré peu actif vis-à-vis de l'antigène méthylique correspondant et n'a donné aucune fixation avec l'antigène Str. 3238.

Pour mettre en évidence les anticorps spécifiques, 50 à 100 milligrammes de corps bacillaires lavés à plusieurs reprises avec de l'eau physiologique furent mélangés avec 3 à 5 cent. cubes d'antisérum inactivé et convenablement dilué. Les mélanges furent laissés à l'étuve pendant une à quatre heures, on agitait de temps en temps, puis on laissait à la glacière. Le lendemain matin, on centrifugeait fortement jusqu'à clarification complète, on prélevait le sérum surnageant et on inactivait encore une fois pendant dix minutes. Avec ces antisérums absorbés on fit de nouveau la réaction de fixation.

Quelques résultats sont exposés dans le tableau II.

En général, il n'a pas été possible de priver l'antisérum des anticorps par absorption, soit par l'antigène homologue, soit par l'antigène hétérologue. L'antisérum Str. Thomoff a donné une fixation plus élevée après l'absorption par le Str. *eppingeri* que le sérum non absorbé. Seulement les antisérums préparés avec deux souches d'un « type particulier » isolé du cobaye, ont montré le même taux après absorption par les streptothricées ou les bacilles tuberculeux qu'avant absorption; celle-ci étant effectuée avec les souches rugueuses difficilement émulsionnables, le contact intime entre l'antigène et l'anticorps n'était pas réalisé.

Dans une expérience, le *B. subtilis* a absorbé les anticorps

TABLEAU II. — Essais de mise en évidence d'anticorps spécifiques par l'absorption avec divers antigènes.

ANTISÉRUM	UNITÉS D'ALEXINE fixées par divers antigènes					
	<i>Eppingeri</i>	Thomoff	Fléole	3258	T. B.	Correspondant
<i>Eppingeri</i> non abs. . . . .	100		100	100	200	
<i>Eppingeri</i> abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	50		0	0	0	
<i>Eppingeri</i> abs. 3258 . . . . .	50		0	50	0	
<i>Eppingeri</i> abs. fléole. . . . .	50		50	0	50	
<i>Eppingeri</i> abs. T. B. . . . .	50		0	0	100	
<i>Eppingeri</i> non abs. . . . .	250 <i>m</i>	50				
<i>Eppingeri</i> abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	60	0				
<i>Eppingeri</i> abs. Thomoff . . . . .	40	0				
Thomoff non abs. . . . .		40				
Thomoff abs. Thomoff . . . . .		20				
Thomoff abs. <i>eppingeri</i> . . . . .		60				
3258 non abs. . . . .	30			60		
3258 abs. 3258. . . . .	10			20		
3258 abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	0			20		
Fléole non abs. . . . .	600 <i>m</i>		600 <i>m</i>		600 <i>m</i>	
Fléole abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	100		100		200	
Rabin R. non abs. . . . .				400	200	400
Rabin. abs. 3258. . . . .				100	100	300
Rabin. abs. T. B. . . . .				400	100	200
Ratti R non abs. . . . .	300		300	300	200	200
Ratti abs. 3258. . . . .	0			100	100	100
Ratti abs. T. B. . . . .	100			100	100	200
Ratti abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	100		0		100	
Ratti abs. <i>subtilis</i> . . . . .	100				100	
Ratti abs. kaolin . . . . .	0				0	
Vallée R non abs. . . . .	300		300	300	100	200
Vallée abs. 3258. . . . .				100	0	0
Vallée abs. T. B. . . . .				100	0	0
Vallée abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	100		100			
36 non abs. . . . .	100		100			
36 abs. <i>eppingeri</i> . . . . .	100		100			
BCG S non abs. . . . .	200				300	
BCG abs. T. B. . . . .	200				300	
BCG abs. 3258 . . . . .	200					
BCG abs. kaolin. . . . .	100					

*m*, minimum.

d'un sérum tuberculeux au même taux que les bacilles tuberculeux ou les streptothricées, cette absorption est peut-être non spécifique. Dans nos études antérieures sur les virus filtrants [29] nous avons en effet observé l'absorption d'anticorps par la bougie Chamberland pulvérisée, de même dans

TABLEAU III. — Déviation de l'alexine en présence de divers sérums par l'antigène du groupe acido-résistant-diphthérie-streptothrix et d'autres groupes.

ANTISÉRUM	NOMBRE D'UNITÉS D'ALEXINE fixées par divers antigènes						
	Coli	Subtilis	Charbon	T. B.	Ficole	Eppingeri	Staphylocoque Diphthérique
Coli . . . . .	20			0 à 8	0 à 4	4 à 10	
Coli deuxième . . . . .	20			0		0	
Subtilis . . . . .		20 à 40		0	4	0	
<i>Tuberculeux :</i>							
Ratti R. . . . .	10	0	0				10
Vallée R. . . . .			0				
Laporte S. . . . .	0			200			
Laporte R. . . . .	0			20			
Charbon. . . . .			0	10 à 20		0	
Abortus. . . . .				0		4	
Streptococcique. . . . .				0		0	
Peste . . . . .				10		10	
<i>Paratuberculeux :</i>							
Rabin. R. . . . .			0				
<i>Streptothricées :</i>							
Eppingeri . . . . .			0				
3258. . . . .			0				

les études rapportées ici, l'absorption des anticorps s'effectuait mieux par le kaolin que par les bacilles acido-résistants ou les streptothricées; mais, dans le cas de la souche BCG S appartenant au « type particulier », même l'anticorps spécifique fut absorbé.

Les expériences d'absorption n'ont pas donné d'indication de spécificité des antigènes pour les souches utilisées sauf pour le « type particulier ». Nous avons alors cherché la présence de l'antigène commun chez des bacilles n'ayant aucun rapport avec les bacilles acido-résistants ou avec les Streptothricées. Rice et Reed [24] ayant insisté sur la présence d'antigènes communs chez les souches rugueuses, nous nous sommes servi des variantes rugueuses du *B. coli* et du *B. subtilis*, 0 c. c. 5 d'émulsion contenant 1 milligramme de bacilles par 1 cent. cube d'eau physiologique n'ont donné

aucune fixation ou une fixation de 10 unités seulement en présence des antisérums tuberculeux. Les antisérums préparés avec ces deux souches ont donné 20 à 40 unités avec les émulsions bacillaires homologues et 0 à 10 unités avec les antigènes méthyliques hétérologues (voir tableau III). Les antisérums pesteux, *abortus* et charbonneux ont fixé 0 à 20 unités en présence d'antigènes de bacilles acido-résistants ou de Streptothricées. L'antisérum charbonneux a donné 10 à 20 unités avec l'antisérum tuberculeux et 0 unité avec l'antigène correspondant. Cet antigène charbonneux (préparé avec le deuxième vaccin charbonneux) n'a donné aucune fixation ni avec l'antisérum correspondant ni avec des antisérums divers (tuberculeux Ratti R, Vallée R, paratuberculeux-Rab. R, *Streptothrix eppingeri*, 3258). L'émulsion de staphylocoques a donné 10 unités en présence de l'antisérum tuberculeux Ratti R (voir tableau III), et l'antisérum streptococcique n'a pas fixé les antigènes tuberculeux ou *eppingeri*. Ces résultats ne nous autorisent donc pas à affirmer la présence d'un antigène commun entre ces bacilles et le groupe streptothrix-bacilles acido-résistants.

#### CONCLUSIONS.

1° Les streptothricines se sont montrées moins efficaces que les extraits méthyliques dans les réactions de fixation de l'alexine.

2° D'une façon générale, le maximum d'unités d'anticorps n'a pas été obtenu avec l'antigène homologue.

3° Les antigènes *Streptothrix* sont aussi actifs avec les antisérums divers (tuberculeux, paratuberculeux, « type particulier », diphtérique) que les antigènes tuberculeux ou correspondants, sauf pour les souches suivantes : Crottin S et Rabinowitsch S, du beurre, paratuberculeux A S (aviaire), Serpent R (bacille acido-résistant des animaux à sang froid) et M isolé par Griffith.

4° Les antisérums préparés à partir de bacilles tuberculeux bovins, lisses ou rugueux, ont montré les anticorps du même type.



5° L'antisérum préparé à partir de corps de bacilles diphtériques a donné une bonne fixation avec divers antigènes méthyliques, mais le sérum antitoxique s'est montré peu actif vis-à-vis de l'antigène méthylique correspondant et n'a donné aucune fixation avec l'antigène Str. 3258.

Tous ces résultats sont en faveur de la présence d'un antigène commun aux bacilles tuberculeux, aux Streptothricées et au bacille diphtérique. Pour mettre en évidence les anticorps spécifiques, l'absorption de l'anticorps commun a été effectuée avec divers antigènes. Aucun indice de la présence d'anticorps spécifiques n'a été obtenu pour les bacilles tuberculeux des mammifères et les Streptothricées ; des souches du « type particulier » ont donné des anticorps spécifiques qui ne sont pas absorbés par des antigènes hétérologues.

Il a été possible de priver un antisérum des anticorps de groupe par absorption avec le *B. subtilis*. Il est intéressant de voir que l'absorption par le kaolin est plus efficace que celle obtenue avec des suspensions de bacilles appartenant au même groupe sérologique. Le kaolin absorbe même l'anticorps spécifique.

La déviation de l'alexine par des antigènes ou des anticorps préparés à partir de bacilles n'ayant aucun rapport avec les bacilles acido-résistants ou les Streptothricées a été nulle ou très faible.

Ces résultats nous autorisent à conclure à la présence d'un antigène commun au groupe *Streptothricées-Mycobacterium-Corynebacterium*.

L'aspect lisse ou rugueux des colonies ne détermine pas la spécificité des diverses souches.

#### RÉSUMÉ.

Notre étude a porté sur 11 souches de Streptothricées, dont 3 avaient été isolées par nous-même. Nous avons basé notre classification sur les travaux d'Orskov et Erikson, en insistant surtout sur la consistance des cultures.

Les souches G 12, G S, 4519, *bovis* et *madurae* appartiennent au groupe I ; et les souches *eppingeri*, 3258, A 21-22, Thomoff et Laporte appartiennent au groupe II. La souche

*gaiginskii* et les deux autres souches isolées récemment par nous ne se conformant pas à la classification d'Orskov, nous les avons classées en dehors des groupes de cet auteur (en groupe III).

Les spores de souches diverses n'ont pas montré de résistance à la chaleur plus élevée que celle des filaments.

Pour l'isolement des Streptothricées à partir de produits contenant des germes banaux, l'action de l'acide sulfurique et de l'acide acétique a été étudiée. L'acide acétique a été plus toxique que l'acide sulfurique pour les Streptothricées. En raison de l'irrégularité des résultats, on ne peut pas isoler à coup sûr les Streptothricées après traitement préalable par l'acide sulfurique de produits souillés par des germes banaux.

L'étude du pH en vue de différencier diverses souches a donné des résultats irréguliers. Les variations du pH ne peuvent pas être utilisées soit pour la différenciation des souches, soit pour leur classification.

Toutes les souches se sont montrées peu virulentes ou avirulentes pour le cobaye; même l'inoculation de doses massives n'a pas produit de lésions généralisées. Les essais d'augmentation de virulence par passages successifs chez des animaux par voie sous-cutanée ou par voie péritonéale ont échoué. Pour les souches *eppingeri*, Thomoff et 4319, la surinfection des cobayes a abouti à la production de lésions plus intenses et plus durables que celles des cobayes primo-infectés.

L'étude de l'allergie a été entreprise pour essayer de préciser les rapports antigéniques entre les Streptothricées et les bacilles tuberculeux.

Les expériences ont démontré la présence d'un antigène commun aux Streptothricées et aux bacilles tuberculeux.

Les études sérologiques ont confirmé les conclusions tirées de l'étude de l'allergie en montrant la présence d'un antigène commun aux bacilles tuberculeux, aux Streptothricées et au bacille diphtérique. Aucune preuve de la présence d'antigènes spécifiques n'a été obtenue pour les bacilles tuberculeux des mammifères et pour les Streptothricées. La déviation de l'alexine avec des antigènes ou des anticorps préparés à partir de bacilles n'ayant aucun rapport avec les bacilles acido-résistants ou les Streptothricées a été nulle ou très faible.



## BIBLIOGRAPHIE

- [1] GAIGINSKI (A.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **115**, 1934, p. 13.
- [2] BRETEY (J.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **113**, 1933, p. 53.
- [3] ORSKOV (J.). Investigation into the morphology of the ray-fungi, Copenhagen, 1923.
- [4] ERIKSON (D.). *M. R. C. spec. rep. series*, 203.
- [5] SARTORY (A. et R.), MEYER (J.) et MEYER (M.). *Ces Annales*, **55**, 1935, p. 182.
- [6] SAENZ (A.), SADETTIN (M.) et COSTIL (A.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **118**, 1935, p. 215.
- [7] LONG (E. R.) et MAJOR (A. L.). *Amer. Rev. of Tuber.*, **5**, 1921, p. 715.
- [8] GOYAL (R. K.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **121**, 1936, p. 390 et 1165 ; *Ibid.*, **122**, 1936, p. 298.
- [9] SAENZ (A.), COSTIL (A.) et SADETTIN (M.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **118**, 1935, p. 643 et 645 ; **119**, 1935, p. 1286.
- [10] SCHAEFER (W.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **120**, 1935, p. 590.
- [11] GOYAL (R. K.). *Tubercle*, novembre 1936, p. 66.
- [12] BOQUET (A.) et BRETEY (J.). *Ces Annales*, **52**, 1934, p. 252.
- [13] IRIMESCU. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **69**, 1905, p. 844.
- [14] BOQUET (A.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **96**, 1927, p. 844.
- [15] AJO (C.) et GOYAL (R. K.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **122**, 1936, p. 879.
- [16] ARLOING (F.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **64**, 1908, p. 722.
- [17] CALMETTE (A.) et GUÉRIN (C.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **64**, 1908, p. 889.
- [18] BORDET (P.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **106**, 1931, p. 1251 ; *Ibid.*, **114**, 1933, p. 572.
- [19] FREUND (J.). *Journ. of Immunol.*, **30**, 1936, p. 241.
- [20] FRITSCHÉ (E.). *Arch. f. Hyg.*, **65**, 1908, p. 181.
- [21] CLAYPOLE (E.). *Journ. Exp. Medicine*, **17**, 1913, p. 99.
- [22] MASSOL, BOQUET (A.), NÈGRE (L.) et URBAIN, cité par CALMETTE (A.). *L'infection bacillaire et la tuberculose*.
- [23] FURTH (J.) et ARONSON (J. D.). *Journ. of Immunol.*, **13**, 1927, p. 265. 1927, p. 265.
- [24] RICE (C. E.) et REED (G. B.). *Journ. of Immunol.*, **23**, 1932, p. 385.
- [25] SCHAEFER (W.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **119**, 1935, p. 59.
- [26] BRETEY (J.). *C. R. de la Soc. de Biol.*, **113**, 1933, p. 350.
- [27] GRIFFITH (A. S.). *Tubercle*, 1932, p. 417.
- [28] GRIFFITH (A. S.). *Tubercle*, **15**, 1933, p. 53.
- [29] GOYAL (R. K.). *Journ. of Immunol.*, **29**, 1935, p. 111.

Le Gérant : G. MASSON.